

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA

E.A.P. DE MEDICINA VETERINARIA

**Escore de lesiones intestinales macroscópicas de coccidias
en pollos de engorde desafiados con cepas locales de
eimerias y suplementados con un programa anticoccidial
(salinomicina / nicarbazina)**

TESIS

Para optar el título profesional de Médico Veterinario

AUTOR

José Antonio Pérez Montes

Lima – Perú

2015



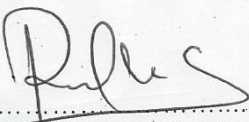
UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA

Facultad de Medicina Veterinaria


ESCUELA ACADÉMICO-PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA

Trabajo sustentado y aprobado ante el Jurado designado por la Escuela Académico Profesional de Medicina Veterinaria mediante Resolución Directoral N°. 095-EAPMV/FMV-2015

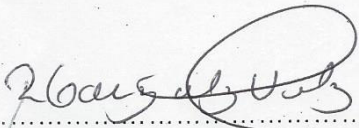
PRESIDENTE :


ROSA PERALES CAMACHO

MIEMBROS :


ELIANA TCOCHEA D'ARRIGO
Asesora de la Tesis


FERNANDO CARCELÉN CÁCERES


ROSA GONZÁLEZ VÉLIZ

San Borja, 28 de agosto de 2015

Vº Bº

MV. Mg. HERMELINDA RIVERA GERÓNIMO
Directora de la Escuela Académico Profesional de
Medicina Veterinaria





ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIO

En el auditorio principal de la Facultad de Medicina Veterinaria, el día viernes **28 de agosto de 2015**, a las **12:00** horas, se constituyó el Jurado Examinador designado mediante Resolución Directoral N° **095-EAPMV/FMV-2015**, integrado por los siguientes profesores:

ROSA PERALES CAMACHO
ELIANA ICOCHEA D'ARRIGO
FERNANDO CARCELÉN CÁCERES
ROSA GONZÁLEZ VÉLIZ

Presidente del Jurado
Asesora de la Tesis
Miembro del Jurado
Miembro del Jurado

Luego de la instalación del Jurado, a cargo del Presidente del Jurado y bajo la dirección del mismo, el Bachiller Don: **PÉREZ MONTES, JOSÉ ANTONIO**, para optar el Título Profesional de Médico Veterinario, procedió a sustentar públicamente la Tesis:

**"ESCORE DE LESIONES INTESTINALES MACROSCÓPICAS DE COCCIDIAS EN
POLLOS DE ENGORDE DESAFIADOS CON CEPAS LOCALES DE EIMERIAS Y
SUPLEMENTADOS CON UN PROGRAMA ANTICOCCIDIAL
(SALINOMICINA/NICARBAZINA)"**

Luego de absolver las preguntas del Jurado y del público asistente, el Jurado deliberó con la abstención reglamentaria del Asesor de la Tesis y acordó su **APROBACIÓN** por **UNANIMIDAD**, otorgándole la nota de **DIECINUEVE (19)**.

Habiéndose aprobado la sustentación pública de la Tesis, el Presidente en representación del Jurado recomienda que la Escuela Académico Profesional de Medicina Veterinaria proponga la aprobación del **TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIO** a la Facultad de Medicina Veterinaria y que ésta proponga al Rectorado el otorgamiento respectivo.

Siendo las **13:15 horas**, concluyó el acto académico de sustentación pública de Tesis en fe de lo cual suscriben la presente acta por cuádruplicado los integrantes del Jurado:

Rosa Perales Camacho: MSc. Prof. Principal, D.E.

Eliana Icochea D'Arrigo: Mg. Prof. Principal, T.C.

Fernando Carcelén Cáceres: Mg. Prof. Principal, D.E.

Rosa González Véliz: Blga. Prof. Asociado, D.E.



A mis padres:

Mery y Eladio

*Quienes fueron y son un modelo a seguir,
guiándome y alentándome a obtener
todas mis metas con esfuerzo y dedicación.*

A mis hermanas:

Rosa y Fabiana

*Quienes se esforzaron y sacrificaron para darme
lo mejor, enseñando el valor de las cosas.*

A Dios:

*Que siempre me dio fuerzas para seguir adelante
en los momentos más críticos y no permitió que
errara el camino, dándome la lucidez para tomar
siempre la mejor decisión.*

*Mi agradecimiento y consideración
a la Dra. Eliana Icochea por su acertada dirección y
asesoramiento en el desarrollo del presente trabajo.*

*A los doctores del Laboratorio de Patología Aviar
por sus oportunos consejos y valiosos aportes
al presente trabajo : Dr. Pablo Reyna,
Dra. Rosa Gonzales, Dra. Giovana Cribillero.*

*A Ilender Pharmaceutical Corporation y
al Dr. Daniel Molina, por permitirme
realizar este trabajo de investigación.*

*A los doctores: Dra. Rosa Perales y Dr. Fernando Carcelén
por sus consejos, y recomendaciones brindados durante
y después del desarrollo del presente trabajo.*

*Mi gratitud
al Sr. Elio, Juan y José por su invalorable
labor desinteresado en el desarrollo de este trabajo.*

ÍNDICE DE CONTENIDO

	Pág.
Dedicatoria	ii
Agradecimientos	iii
Índice	iv
Resumen	vi
Abstract	vii
Lista de Cuadros	viii
Lista de Figuras	ix
Lista de Apéndices	x
I. INTRODUCCIÓN	1.
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	4.
2.1. Etiología	4.
2.1.1. Clasificación	5.
2.1.2. Morfología	6.
2.1.3. Ciclo Biológico	6.
2.2. Epidemiología	8.
2.3. Patogenia	9.
2.4. Signos clínicos	10.
2.5. Diagnóstico	11.
2.6. Prevención y Control	12.
2.6.1. Anticoccidiales Químicos	14.
2.6.1.1. Nicarbazina	15.
2.6.2. Anticoccidiales Ionóforos	16.
2.6.2.1. Salinomycin	18.
2.6.3. Escala de Lesiones	19.
III. MATERIALES Y MÉTODOS	24.
3.1. Materiales	24.
3.1.1. Lugar y Tiempo de Estudio	24.
3.1.2. Animales y Alimentación	24.
3.1.3. Programa Anticoccidial Utilizado en los Tratamientos	25.
3.1.4. Equipos y Materiales	25.

3.2. Métodos	25.
3.2.1. Diseño Experimental	25.
3.2.2. Tamaño de Muestra	26.
3.2.3. Obtención de las Especies de Eimeria de Campo	27.
3.2.4. Desafío de las Aves	27.
3.2.5. Parámetros Evaluados	28.
3.2.5.1. Mortalidad, Signos clínicos y Lesiones Intestinales	
Macroscópicas	28.
3.3. Análisis Estadístico de Datos	29.
IV. RESULTADOS	30.
V. DISCUSIÓN	33.
VI. CONCLUSIONES	36.
VII. RECOMENDACIONES	37.
VIII. LITERATURA CITADA	38.
IX. APÉNDICE	50.

RESUMEN

El presente estudio, tuvo por objetivo determinar el escore de lesiones intestinales macroscópicas de coccidias en pollos de engorde desafiados con cepas de campo locales de *E. acervulina*, *E. maxima* y *E. tenella* y suplementados con un programa anticoccidial (Salinomicina / Nicarbazina). El estudio se realizó en el galpón experimental del Laboratorio de Patología Aviar de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos; donde se utilizaron 600 pollos de engorde de la línea Cobb Vantress 500. El diseño comprendió 4 tratamientos: T1 (n=150), T2 (n=150), T3 (n=150) y T4 (n=150) con 6 repeticiones por tratamiento. T3 y T4 recibieron diferentes dosis del programa Salinomicina / Nicarbazina, 40 o 50 ppm de cada principio activo respectivamente, y fueron desafiados a los 14 días de edad, vía oral, con 1 mL de un inóculo con ooquistes de Eimerias colectadas de campo. Se registró mortalidad, signos clínicos y lesiones intestinales compatibles con coccidias desde los 14 a 28 días de edad. Al 7° día post desafío se determinó el escore de lesiones macroscópicas para coccidias utilizando la escala de + 0 a + 4 descrita en 1970 por Johnson y Reid. Se confirmó la presencia de especies de Eimeria mediante el raspado de la mucosa intestinal. En pollos de engorde, frente a un desafío con especies patógenas locales de Eimerias, el tratamiento anticoccidial demostró una significativa reducción de la mortalidad y signos clínicos por coccidiosis, y una significativa reducción del escore de lesiones intestinales macroscópicas de *Eimeria acervulina* y *Eimeria maxima* ($p < 0.05$), mas no de *Eimeria tenella*. El análisis estadístico se realizó con el programa Stata 12.0 (Stata Corp).

Palabras clave: Salinomicina, Nicarbazina, *Eimeria sp.*, escore de lesiones, pollos de engorde

ABSTRACT

This study aimed to determine the score of macroscopic intestinal lesions of coccidiosis in broiler chickens challenged with strains of local field *E. acervulina*, *E. maxima* and *E. tenella* and supplemented with an anticoccidial program (Salinomycin / nicarbazin). The study was conducted in the experimental shed Avian Pathology Laboratory, Faculty of Veterinary Medicine of the National University of San Marcos; T1 (n = 150), T2 (n = 150), T3 (n = 150) and T4 (n = 150) with 6 replicates: 600 broilers where the Cobb Vantress line 500. The design included 4 treatments were used per treatment. T3 and T4 received different doses of Salinomycin / nicarbazin, 40 or 50 ppm of active ingredient each program respectively, and were challenged at 14 days of age, orally with 1 mL of an inoculum with oocysts collected *Eimerias* field. mortality, clinical signs and intestinal lesions compatible with coccidia was recorded from 14 to 28 days old. On the 7th day post challenge the score for coccidial lesions macroscopic scale using + 0 to + 4 described in 1970 by Johnson and Reid was determined. The presence of *Eimeria* species was confirmed by scraping the intestinal mucosa. In broilers, against a challenge with pathogenic *Eimerias* premises, the anticoccidial treatment demonstrated a significant reduction in mortality and clinical signs coccidiosis, and a significant reduction of the score of macroscopic intestinal lesions of *Eimeria acervulina* and *Eimeria maxima* ($p < 0.05$), but not of *Eimeria tenella*. Statistical analysis was performed using Stata 12.0 (Stata Corp) program.

Key words: Nicarbazin, Salinomycin, *Eimeria sp.*, injury score, broilers

LISTA DE CUADROS

	Pág.
CUADRO 1. Mortalidad y viabilidad de aves obtenida en los tratamientos evaluados al final del estudio	31.
CUADRO 2. Porcentaje de aves con signos clínicos observados en los tratamientos evaluados a los 5, 9 y 14 d.p.i. (19, 23 y 28 días de edad)	31.
CUADRO 3. Escore de lesiones macroscópicas por coccidias encontrados en los tratamientos evaluados a los siete días post desafío (21 días de edad)	32.

LISTA DE GRÁFICOS

	Pág.
GRÁFICO 1. Representación gráfica de los valores de las medianas de los escore de Lesiones a nivel del duodeno (formato de gráficas Stata 12.0)	32.
GRÁFICO 2. Representación gráfica de los valores de las medianas de los escore de Lesiones a nivel del yeyuno (formato de gráficas Stata 12.0)	32.
GRÁFICO 3. Representación gráfica de los valores de las medianas de los escore de Lesiones a nivel del ciego (formato de gráficas Stata 12.0)	32.

LISTA DE APÉNDICES

	Pág.
APÉNDICE 1. Galpón experimental y Laboratorio de Patología Aviar, FMV-UNMSM, donde se realizó el estudio	50.
APÉNDICE 2. Signos clínicos observados en T2, T3 y T4 a los seis días post desafío con coccidias	51.
APÉNDICE 3. Evaluación del emplume de las aves a los 28 días de edad en los tratamientos desafiados con el inóculo de coccidias	54.
APÉNDICE 4. Lesiones macroscópicas encontradas a nivel de duodeno a los siete días post infección	55.
APÉNDICE 5. Lesiones macroscópicas encontradas a nivel de yeyuno a los siete días post infección	56.
APÉNDICE 6. Lesiones macroscópicas encontradas a nivel de ciegos a los siete días post infección	57.
APÉNDICE 7. Determinación de Salinomicina y Nicarbazina, luego de ser añadido y mezclado en el alimento balanceado de aves	58.
APÉNDICE 8. Composición nutricional de las dietas de inicio y crecimiento empleadas en el estudio	59.
APÉNDICE 9. Distribución de repeticiones (unidades experimentales) y condiciones de crianza	61.

I. INTRODUCCIÓN

La coccidiosis aviar es una enfermedad frecuente causada por protozoarios intestinales del genero *Eimeria*, especie-específicos, que tanto en el Perú como a nivel mundial, afecta todos los sistemas de producción de aves causando grandes pérdidas económicas. Esto se debe a que las coccidias, se multiplican en el intestino anterior, medio y ciegos, causando lesiones en las células epiteliales y vellosidades intestinales, provocando un síndrome de mala absorción de nutrientes y afectando los parámetros productivos de las aves.

En un estudio realizado por Williams (1999) se evaluó el impacto económico de la coccidiosis en la industria avícola, estimándose una pérdida anual de más de 800 millones de dólares. En otro estudio basado en el modelo de Williams (1999) el impacto mundial de la coccidiosis se estimó en una pérdida anual de más de 2.3 mil millones de euros, suponiendo 50 mil millones de pollos de engorde de 2kg de peso vivo (Sorensen *et al.*, 2006). Las pérdidas son atribuidas a la mortalidad, mala absorción de nutrientes, utilización ineficiente del alimento y el deterioro de la tasa de crecimiento, así como a los gastos por prevención y tratamiento (Montoya y Quiroz, 2013).

Esto cobra importancia, ya que la producción avícola en nuestro país es una de las actividades pecuarias más importantes por los beneficios que recibimos de estas aves que tienen la capacidad de transformar el alimento que consumen en productos alimenticios como carne y huevo. Es por esto que, en la industria avícola se utilizan programas anticoccidiales para prevenir y controlar la multiplicación de las especies de *Eimeria* responsables de la coccidiosis, ya que las infecciones por coccidia no pueden ser controladas únicamente con buen manejo y sanidad (Rojo, 1996).

Estos programas anticoccidiales consisten en la incorporación de drogas anticoccidiales que son combinadas con el alimento balanceado que va a ser consumido por las aves en la ración diaria. Los programas pueden ser continuos o duales, así el sistema dual consiste en cambiar el anticoccidial a la mitad de un ciclo de crianza por otro producto de diferente clase (entre 21-25 días de edad) (Del Cacho y Bosch, 2014). Generalmente los programas anticoccidiales se tienen que rotar; es decir, cambiar el anticoccidial cada 4-6 meses de producción para evitar la generación de resistencia a los mismos que resulta ser un serio problema.

Pero una consecuencia del uso de anticoccidiales es la generación de residuos químicos en la carne, debido a esto existe la necesidad de un periodo de retiro de cuatro a siete días (generalmente al día 35 de edad) antes de la saca de las aves (42 días de edad). Además, como se mencionó, otro problema es la generación de cepas resistentes a los anticoccidiales utilizados para combatir esta enfermedad, que representa un obstáculo para su control (Keshavarz y McDougald, 1982). Es por esto que muchas drogas anticoccidiales han perdido eficacia contra las coccidias, principalmente como consecuencia de sub dosificaciones (Bruce, 2002).

Por otro lado, puede ocurrir lo contrario: el “fenómeno de la inmunidad incompleta” que es aquel que se presenta en las aves que reciben programas anticoccidiales que limitan totalmente el desarrollo del ciclo de las coccidias y no permiten el establecimiento de la inmunidad, corriendo el peligro de brotes de coccidiosis clínica o subclínica después de la suspensión de los anticoccidiales durante el período de retiro, como ocurre en aves de postura comercial (Bédrik, 1989).

Esto hace necesario investigar combinaciones entre las drogas existentes en el mercado para buscar alternativas, ya que desarrollar nuevos anticoccidiales para el control de este parásito significa incurrir en costos elevados. Así en algunos países se ha utilizado con éxito la mezcla de dos o más productos anticoccidiales, ya que brindan una acción potenciada o sinérgica con menor toxicidad, mayor eficacia por tener un mayor rango de actividad y por lo general un lento desarrollo de resistencia (Glazer *et al.*, 1993). Por ejemplo, hay estudios científicos que respaldan el sinergismo que ejerce la Nicarbazina en combinación con ionóforos para el control de coccidiosis cuando esta se utiliza a niveles bajos (Cuckler *et al.*, 1956; Long *et al.*, 1988).

Además se sabe que las cepas de *Eimeria* en campo varían en su patogenicidad y sensibilidad frente a los anticoccidiales, esto hace que la severidad de signos y lesiones sea igualmente variable y por ende su control, por lo que los programas para el control de *Eimerias* deben

constantemente ser evaluados en condiciones propias de cada país, con el fin de medir su efectividad frente a cepas de *Eimerias* de campo locales de cada región.

El presente estudio, tuvo por objetivo determinar el score de lesiones macroscópicas de coccidias en pollos de engorde desafiados con cepas locales de *E. acervulina*, *E. maxima* y *E. tenella* y suplementados con un programa anticoccidial (Salinomicina / Nicarbazina).

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. ETIOLOGÍA

La coccidiosis aviar es una enfermedad parasitaria cosmopolita causada por protozoarios producida mediante la ingestión de ooquistes esporulados causando manifestaciones clínicas o subclínicas (Del Cacho y Bosch, 2014). Se denomina coccidiosis a la infección por coccidios en número suficiente para producir manifestaciones clínicas de la enfermedad y, coccidiasis; cuando no resulte en efectos clínicos demostrables.

Las especies de coccidias en el pollo pertenecen al género *Eimeria* y todos invaden el revestimiento del intestino delgado o del ciego. Las especies reconocidas son *Eimeria acervulina*, *E. brunetti*, *E. maxima*, *E. mitis*, *E. necatrix*, *E. praecox* y *E. tenella*, mientras que la validez de *E. Hagani* y *E. mivati* está bajo revisión (Conway y McKenzie, 2007).

A finales del siglo XX, en la mayoría de las regiones del mundo, *E. acervulina* y *E. maxima* eran las especies de coccidia más comúnmente encontradas en pollos de engorde, con menor incidencia de *E. tenella*, *E. mivati* y *E. mitis*. Las infecciones por *E. Brunetti* y por *E. necatrix* no se observaban comúnmente en los lotes de pollos de engorde, posiblemente debido a los tiempos de crianza más cortos (McDougald y Conway, 1984).

Actualmente, según la casuística del Laboratorio de Patología Aviar de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, las especies de *Eimeria* más frecuentemente encontradas en las muestras intestinales remitidas de las aves con signos de coccidiosis son *E. acervulina*, *E. maxima* y *E. tenella* (E. Icochea, Lima, comunicación personal).

2.1.1. CLASIFICACIÓN

El Phylum Apicomplexa incluye más de 4000 especies de protozoarios alveolados que son parásitos obligados, incluyendo al género *Eimeria* (Del Cacho y Bosch, 2014). Las características de los ooquistes esporulados, con sus medidas, son generalmente suficientes para identificar las especies de coccidias, pero existen otras características para diferenciarlas como son la duración de los periodos prepatente y patente, el tiempo necesario hasta la esporulación, la especificidad del hospedador, la localización en el hospedador, la morfología de las fases endógenas, sus relaciones con las células hospedadoras y el poder patógeno (Martín, 2002).

Pero la sistemática y taxonomía de los Apicomplexa está sometida a constantes cambios debido a la aparición de nuevas técnicas para el estudio del material genético, que se utilizan para construir nuevas relaciones filogenéticas. Los resultados obtenidos con estas técnicas, ponen en duda las filogenias establecidas con datos basados en la morfología y características del desarrollo que definían en el pasado los grupos de especies (Del Cacho y Bosch, 2014). Sin embargo, la clasificación tradicional es la siguiente:

Sub reino	:	Protozoa
Phylum	:	Apicomplexa
Clase	:	Sporozoa
Sub clase	:	Coccidia
Orden	:	Eucoccidiidae
Sub Orden	:	Eimeriina
Familia	:	Eimeriidae
Género	:	<i>Eimeria</i>
Especie	:	<i>E. tenella</i> , <i>E. maxima</i> , <i>E. acervulina</i> , <i>E. necatrix</i> , <i>E. brunetti</i> , <i>E. praecox</i> , <i>E. mitis</i> , <i>E. mivati</i> (validez dudosa), <i>E. hagani</i> (validez dudosa) (Soulsby, 1987; Del Cacho y Bosch, 2014).

2.1.2. MORFOLOGÍA

Las especies del Phylum Apicomplexa se caracterizan por tener un complejo apical formado por orgánulos especializados en el movimiento e invasión de células del hospedador (Del Cacho y Bosch, 2014). Los ooquistes varían en tamaño y forma según la especie y pueden ser ovoides, esféricos, subesféricos o elipsoidales (Soulsby, 1987), estos parasitan el citoplasma nutriéndose por ósmosis a partir de los líquidos de las células epiteliales hospedadoras a las cuales destruyen al desarrollarse y multiplicarse (Borchert, 1981).

El ooquiste esporulado tiene una pared o cubierta externa que consta de una o dos capas; aunque puede tener incluso tres. En algunos casos hay una capa membranosa interna (Alcaino y Gormant, 1999). Borchert (1981) menciona que esta pared está compuesta por una capa externa delicada, gelatinosa o mucoide, otra capa media queratinoide, gruesa, amarillenta y que forma el micrópilo, y una capa interna semipermeable, muy elástica y que brinda protección química. En algunas especies de *Eimeria* esta pared puede ser amarillenta o verdosa (Soulsby, 1987). El micrópilo es una estructura que se proyecta hacia el exterior desde la pared ooquistica media mediante el cual se liberarán los esporozoitos, esta estructura se encuentra en uno de los extremos del ooquiste.

El espacio interno del ooquiste está relleno de una sustancia líquida incolora en la que se encuentran suspendidos los cuatro esporoquistes de forma ovoide. En el interior de estos, se encuentran dos esporozoitos (Soulsby, 1987), que tienen forma de huso, con uno de los extremos más ancho que el otro y con diferente ubicación en el interior del esporoquiste. Casi siempre puede diferenciarse un núcleo en cada esporozoito (Martín, 2002). En el centro del ooquiste y del esporoquiste se encuentran los cuerpos residuales ooquistico y esporoquistico respectivamente, los cuales son residuos de la formación de los esporoquistes y esporozoitos (Borchert, 1981).

2.1.3. CICLO BIOLÓGICO

El desarrollo del parásito en las células epiteliales intestinales implica etapas de multiplicación asexual (interna) y sexual (externa). Las manifestaciones clínicas que se observan en brotes de esta enfermedad se deben a la destrucción de células epiteliales y vellosidades intestinales del hospedador como resultado del desarrollo y multiplicación del

parásito. El desarrollo de las diversas especies de coccidias en el pollo incluye variaciones menores (Conway y McKenzie, 2007).

La infección ocurre cuando un pollo susceptible ingiere ooquistes esporulados de su entorno, luego, los ooquistes desenquistan dentro de la luz intestinal (Allen y Fetterer, 2002). Estos contienen cuatro esporoquistes, cada uno con dos esporozoitos que son liberados por acción mecánica y bioquímica en el tracto digestivo del pollo (Reid, 1978). Según Allen y Fetterer (2002) intervienen en este proceso la tripsina, la bilis y el CO₂. Una vez liberados invaden las células epiteliales en una zona específica del intestino o ciego, dependiendo de las especies involucradas.

Luego de ingresar en la célula epitelial hospedadora, se transforma de 12 a 48 horas en un trofozoito, que es una forma de alimentación. Este, comienza a aumentar de tamaño, y su núcleo se divide por un proceso de división asexual múltiple conocida como esquizogonia (merogonia). En este punto, la etapa del parásito se denomina como esquizonte o meronte. Dentro de este, se forman pequeños estadios parasitarios llamados merozoitos que son liberados con la ruptura de los esquizontes cuando maduran (al tercer día). Estos merozoitos en su mayoría invaden otras células epiteliales para repetir el proceso de desarrollo a través del trofozoito y las etapas de esquizogonia.

Los merozoitos del segundo ciclo de la esquizogonia vuelven a penetrar en la célula epitelial del hospedador repitiendo el ciclo. Algunos o todos, dependiendo de la especie de *Eimeria*, pueden seguir una tercera fase de esquizogonia antes de la formación de los gametocitos macho (microgametocitos) o hembra (macrogametocitos). El período pre patente varía con cada especie de *Eimeria* en función con el tiempo requerido para cada fase de esquizogonia y el número de fases, pero generalmente comprende entre cuatro a siete días.

El microgametocito madura y se rompe, liberando un gran número de microgametos diminutos biflagelados, mientras que el macrogametocito crece para formar un macrogameto, que al ser fertilizado por un microgameto forma una pared gruesa, dando lugar al cigoto. Esta etapa es la de ooquiste joven o inmaduro (Conway y McKenzie, 2007).

Cuando madura el ooquiste rompe la célula epitelial hospedadora y es eliminado del ave con las heces. En general, este ooquiste maduro pasa por esporogonia (un proceso meiótico - fase sexual) en el entorno externo, en el que se forman dentro de este cuatro esporoquistes, cada uno

con dos esporozoitos después de aproximadamente 24 horas; proceso que requiere de oxígeno y condiciones ambientales adecuadas (Allen y Fetterer, 2002; Conway y McKenzie, 2007).

2.2. EPIDEMIOLOGÍA

La fuente de infección varía y depende de la tecnología usada en la industria avícola; en el caso de la producción extensiva la fuente de infección es un ave, mientras que en la producción intensiva, es la población de aves (Hammond y Long, 1973). En granja, la enfermedad se propaga por contacto directo e indirecto (Williams, 2002). Los ooquistes que son infecciosos podrían ser distribuidos por equipos, polvo, gente, roedores, aves silvestres, así como insectos (Dimitrijević y Ilić, 2003) que suelen estar presentes en la crianza de pollos de engorde, y que funcionan como vectores mecánicos (Calnek, 1997).

La distribución y prevalencia se ven influidas por varios factores como la alta densidad de aves en espacios reducidos, alta temperatura del ambiente, alta humedad relativa, diferentes categorías de aves en el mismo lugar (especialmente de diferente edad), el cambio de alimentación, la calidad del alimento; así como otros factores que comprometen la resistencia a la enfermedad y la salud general de las aves (Calnek, 1997). En climas cálidos y húmedos (lluvias) ocurre mayor incidencia de coccidiosis, siendo significativamente menor en condiciones climáticas cálidas y secas (Calnek, 1997; Razmi y Kalideri, 2000).

El inicio de la enfermedad depende de la edad del ave en el momento de la infección; así como de la capacidad del ave para desarrollar una respuesta inmunológica específica adecuada. La intensidad de la infección depende del número necesario de ooquistes ingeridos y el estado inmunológico del ave (Hofstad, 1984). Šibalić y Cvetković (1996) informaron la forma aguda de la coccidiosis cecal y la mortalidad que produce a los ocho días de edad del pollo.

La infección del pollo joven no se puede evitar en sistemas de producción intensiva. De esta manera, la infección toma lugar en las primeras semanas de vida del ave debido a una alta densidad poblacional y alta susceptibilidad que plantean circunstancias idóneas para la persistencia y propagación de la infección dentro de la granja (Jordan, 1990). La alta carga de ooquistes infecciosos en el piso es una de las condiciones más importantes para la persistencia de la infección en la granja (Hofstad, 1984).

La enfermedad clínica se puede prevenir con la adición continua de anticoccidiales en el alimento, sin embargo, siempre es posible la persistencia de la enfermedad subclínica. Según algunos autores (Braunius, 1980; Razmi y Kalideri, 2000), la forma subclínica de la enfermedad dependerá del tamaño de la granja; y es más frecuente a las seis semanas de edad del pollo produciéndose la infección en casi todos los lotes (Jordan y Pattison, 1996). Esto coincide con lo demostrado por Voeten (1987) en que la coccidiosis subclínica es más prominente de cuatro a seis semanas de edad en el pollo, si no se añaden anticoccidiales a la alimentación.

2.3. PATOGENIA

La forma infecciosa de las coccidias es el ooquiste esporulado que ingresa por vía oral, con el alimento y/o agua contaminados (Lilic *et al.*, 2009). Sin embargo, por encima de cierta cantidad de ooquistes ingeridos, no se producen mayores lesiones ni más cantidad de ooquistes eliminados en las heces; fenómeno conocido como “efecto multitudinario” (Del Cacho *et al.*, 1999). Después de la ingestión, los ooquistes desenquistan, liberando los esporozoitos que son transferidos hasta las células epiteliales del intestino (lugar de la lesión primaria) con la ayuda de linfocitos intraepiteliales (Lawn y Rose, 1982; Daszak, 1999).

La gravedad de la enfermedad varía según la especie de *Eimeria* implicada, la edad del ave y su estado sanitario (enfermedades inmunosupresoras) e inmunológico, así como el número necesario de ooquistes ingeridos (Del Cacho *et al.*, 1999). El proceso patogénico se inicia durante la fase de esquizogonia, aunque es insignificante durante la primera generación de esquizontes. Sin embargo, el estadio más patológico ocurre durante la segunda generación de esquizontes que madura rompiendo la célula epitelial y liberando la segunda generación de merozoitos (Bains, 1979).

El desarrollo de estos parásitos en las células epiteliales que revisten las vellosidades y las glándulas de Lieberkühn, resulta en inflamación, destrucción de vellosidades intestinales causando interrupción en el consumo de agua y alimento, además de un síndrome de mala absorción (Del Cacho *et al.*, 1999), descamación mucosa, ruptura capilar y hemorragia. Este estadio de la enfermedad se acompaña con severos signos clínicos que podrían resultar en la muerte del ave producto de la hemorragia (el pollo puede perder 60 a 80% del volumen de sangre), toxemia o como consecuencia de gangrena o ruptura de la pared intestinal o cecal (Lilic *et al.*, 2009).

La patogenicidad varía según la especie de *Eimeria* involucrada en la infección, por ejemplo *E. tenella* y *E. necatrix* causan alta mortalidad por ser altamente patógenas. Las infecciones mixtas también influyen en el curso de la enfermedad, por ejemplo especies que parasitan la misma región intestinal (*E. praecox* y *E. acervulina*), compiten entre sí, pero la suma de efectos no supera a la infección con una sola especie. Pasa lo contrario con especies que parasitan diferentes regiones del intestino (*E. brunetti*: intestino medio y *E. acervulina*: intestino anterior) en las que el efecto patogénico sumatorio es mayor (Del Cacho *et al.*, 1999).

Durante la coccidiosis, puede haber otros agentes infecciosos que causan inmunosupresión en las aves como el reovirus, la enfermedad de Marek que interfiere en la inmunidad frente a la coccidiosis (Mc Dougald, 1997), el virus de Newcastle y el virus de bronquitis infecciosa. Ruff (1991) menciona que los signos se mezclan dependiendo de los agentes causales.

También ocurren infecciones mixtas con bacterias como *Cl. Perfringens*, *Salmonella* o *E. coli*, que proliferan debido a desequilibrios en la flora intestinal producto de la reducción en la velocidad de tránsito de alimentos por el intestino (Pomiano, 2000). Esto ocurre con mayor frecuencia en países nórdicos porque el uso de antibióticos está prohibido (Van der Stroom y Van der Sluis, 1999).

2.4. SIGNOS CLÍNICOS

Las manifestaciones clínicas difieren entre las especies de *Eimeria* y dependen del grado de infección; así se observan diarreas amarillentas que pueden progresar a hemorrágicas, debilidad y decaimiento, ojos entreabiertos, aglomeración de aves debido al cuadro hipotérmico (Del Cacho *et al.*, 1999), anorexia, pérdida de peso (Borchert, 1981), deshidratación, despigmentación de la piel, plumas sucias y erizadas (Ruff, 1991).

E. tenella produce diarrea amarillenta y a medida que la enfermedad progresa se torna roja o chocolate, cubriendo las plumas alrededor de la cloaca con depósitos sanguinolentos. Los signos aparecen con el inicio de la segunda generación de esquizontes. Estos comienzan rápidamente a multiplicarse, crecer, madurar y liberan la segunda generación de merozoitos que causan inflamación de la mucosa y sub mucosa intestinal, descamación de epitelios y ruptura capilar de la pared cecal produciendo la diarrea sanguinolenta (Jordan, 1990).

Las aves que sobreviven los primeros días de la infección, pueden sobrevivir los próximos 10 a 15 días, tiempo en el que rápidamente pierden peso por interrupción en el consumo (Calnek, 1997). La muerte generalmente ocurre entre los cinco y seis días después de la infección (Hammond y Long, 1973) y se postula que es el resultado de la pérdida de sangre, así como de los daños por la infección; sin embargo, la causa precisa no es clara aun (Calnek, 1997), pudiendo ser resultado de la gangrena o ruptura del saco cecal (Hofstad, 1984).

Por otro lado, *E. acervulina* produce diarrea mucosa de color blanco o amarillento (Del Cacho *et al.*, 1999) y difiere de *E. maxima* que produce diarrea sanguinolenta con coloración anaranjada o rosácea y dilatación o “balonamiento” intestinal, asociándosele a problemas de pigmentación porque afecta la absorción de xantófilas, carotenoides y otros pigmentos (Mc Dougald, 1997).

2.5. DIAGNÓSTICO

Las especies válidas de coccidias en pollos son *E. acervulina*, *E. brunetti*, *E. maxima*, *E. necatrix*, *E. tenella*, *E. praecox* y *E. mitis* (Shirley, 1986); cada una se desarrolla en un área determinada dentro del tracto digestivo del pollo, siendo las cinco primeras, identificables con relativa facilidad, ya que pueden identificarse y diferenciarse en el hospedador en base a los signos clínicos, lesiones intestinales macroscópicas características en determinadas áreas del intestino y la consideración del periodo prepatente; así como el tamaño de los ooquistes y la morfología de las fases intracelulares; además su patogenicidad va de moderada a severa.

Por otro lado, *E. praecox* y *E. mitis*, menos patógenas, podrían ser pasadas por alto, ya que no producen mortalidad ni lesiones patognomónicas, y a menudo se han considerado como benignas (Allen y Fetterer, 2002). Sin embargo, en infecciones experimentales resultan en enteritis, diarrea, y reducida eficiencia alimenticia (Williams, 1998). Estas dos especies causan pérdidas comerciales por coccidiosis subclínica y por lo tanto, necesitan ser controladas (Allen y Fetterer, 2002).

Es común encontrar, por lo menos, seis de estas especies en muestras de cama de una sola granja durante las primeras seis semanas (Williams, 1995). Sin embargo, la identificación definitiva de las especies de *Eimeria* en pollos requiere una combinación de diferentes métodos (Shirley y Millard, 1986). Así, Shirley (1975) fue el primero en utilizar la biología molecular

para diferenciar especies sobre la base de patrones de isoenzimas de oocistos por electroforesis.

Ellis y Bumstead (1990) fueron de los primeros en demostrar que rRNA y sondas de ADN se podrían utilizar para identificar especies individuales a través de patrones de fragmentos de restricción característicos. Procunier *et al.* (1993) utilizaron un ensayo de ADN polimórfico amplificado al azar para diferenciar *E. acervulina* y *E. tenella*.

También han sido utilizadas técnicas de ADN recombinante para discriminar diferentes cepas de *E. tenella* y desarrollar marcadores para las cepas precoces y resistentes a los medicamentos (Shirley y Harvey, 1996); además se ha utilizado la amplificación por PCR a partir de ADN genómico para detectar y diferenciar seis especies de *Eimeria* (Schnitzler *et al.*, 1997). Estos métodos de PCR deberían resultar muy útiles para encuestas epidemiológicas de coccidiosis aviar.

2.6. PREVENCIÓN Y CONTROL

La evaluación de la virulencia y patogenicidad de los diferentes aislados de *Eimeria* en campo es un componente importante para el control de la coccidiosis en el pollo de engorde (Long *et al.*, 1976). En general, existen dos formas para la prevención de la coccidiosis: quimioprofilaxis y vacunación. La quimioprofilaxis se basa en la utilización de productos anticoccidiales de tipo químico, ionóforo o combinaciones de estos en la ración (Chapman, 2005; Sumano y Gutierrez, 2009). Se suele utilizar el término “coccidiostato” con respecto a los anticoccidiales, pero actualmente en la mayoría de países se comercializan anticoccidiales de tipo coccidicida y no sólo coccidiostatos que inhiben el desarrollo del ciclo de las coccidias (Conway y McKenzie, 2007).

La mayoría de los anticoccidiales han estado en uso por varios años; así desde mediados del siglo XX, la inclusión de anticoccidiales en el alimento ha reducido la intensidad de las presentaciones clínicas de la enfermedad a casos más leves que reciben el nombre de coccidiosis subclínica en la que los signos no son siempre evidentes y representa un riesgo permanente para el buen rendimiento productivo de las aves, debido a que la alteración en los parámetros productivos no se detecta fácilmente (Johnson y Reid, 1970; Sumano y Gutierrez, 2009).

A esto se suman algunos factores que han ido complicando el establecimiento de programas de control como son el manejo de la luz, ventilación, alimentación, periodos de retiro e incremento de animales por metro cuadrado; además no hay nuevos productos para el tratamiento, control o erradicación de las coccidias (Sumano y Gutierrez, 2009).

Sin embargo, se han considerado dos grupos de anticoccidiales para prevenir y controlar la coccidiosis: los ionóforos carboxílicos y los productos químicos que fueron el primer tipo de medicamentos usados en el tratamiento y posteriormente en la prevención de la coccidiosis. Los ionóforos son los más populares en la mayoría de países por el riesgo relativamente limitado para una resistencia completa a estos anticoccidiales, al menos en comparación con los productos químicos (De Gussem, 2005).

Uno de los principales debates aún en curso es la capacidad para adquirir resistencia a un anticoccidial por el uso de otro, la llamada “resistencia cruzada” (Chapman, 2007). La evidencia de resistencia cruzada incompleta dentro de los ionóforos se registra por el hecho de que, después de años de uso de la Monensina, se encontró resistencia a Narasina en Estados Unidos ante el lanzamiento comercial del producto (Weppelman *et al.*, 1977). Varios trabajos indican que esta resistencia cruzada entre ionóforos es menos evidente entre productos de diferentes clases, por ejemplo, entre Maduramicina y ionóforos monovalentes o entre Lasalocid y ionóforos monovalentes (McDougald, 1987; Bedrník *et al.*, 1989; Marien *et al.*, 2007).

El debate es de especial importancia en la definición de programas de rotación anticoccidial en sentido estricto entre una droga monovalente a otra de la misma clase; por esto algunos productores no utilizan programas de rotación, aunque la mayoría ha aceptado este principio tan valioso a fin de mantener y salvaguardar la eficacia de los anticoccidiales. El daño subclínico, hoy es considerado por algunos investigadores como la razón más importante para implementar programas de rotación (De Gussem, 2005).

En cuanto a las vacunas, se describen dos tipos: atenuadas y virulentas (Chapman *et al.*, 2002). Las vacunas atenuadas carecen de una parte del ciclo de vida (menos ciclos reproductivos asexuales) de la cepa original de la que se derivan, y como consecuencia tienen un potencial reproductivo y de patogenicidad bajo, que es una ventaja importante en comparación al rendimiento de las vacunas virulentas. Sin embargo, debido a su baja capacidad de reproducción, los costos de producción son significativamente más altos. En contraste, las vacunas vivas sensibles a anticoccidiales tienen como principal ventaja su capacidad para alterar

el nivel de resistencia en una cierta población de coccidias (Chapman y McFarland, 2003; Mathis y Broussard, 2006; Peek y Landman, 2006).

Sin embargo, el uso de vacunas vivas para optimizar la eficacia de los anticoccidiales junto al descanso y rotación de estos últimos son el único método conocido para ayudar a reducir la cantidad de parásitos resistentes en una población de coccidias (Chapman y McFarland, 2003). Además es importante resaltar que sin una buena bioseguridad, estas alternativas no proporcionan los resultados deseados (De Gussem, 2005), y que cualquiera que sea el futuro en el control de esta enfermedad se debe considerar que el uso de anticoccidiales es una de las herramientas clave en su control y tratamiento (Sumano y Gutierrez, 2009).

2.6.1. ANTICOCIDIALES QUÍMICOS

En 1948, la Sulfaquinoxalina fue el primer anticoccidial de tipo químico que se administró en la alimentación de forma continua y en dosis bajas (Chapman, 2003; McDougald, 2003); siguiendo otros en los años posteriores, lo que permitió la expansión y alta producción de la industria avícola.

La mayoría de los productos químicos comercializados inicialmente han desaparecido del mercado debido a la selección rápida de resistencia (De Gussem, 2005) y a las consecuencias negativas sobre la salud y bienestar animal, y la seguridad alimentaria (Paganini, 2005), lo que sugiere su uso prudente cambiando a otro medicamento antes de que la resistencia haya aumentado. Esto limita el potencial comercial que, en combinación con los costos cada vez más altos asociados con el registro de anticoccidiales, explica el corto ciclo de vida de algunos productos químicos (De Gussem, 2005).

Sin embargo, aún algunos son comercializados, tales como Amprolium, Nicarbazina, Robenidin, Diclazurilo, Zoalene, Decoquinato, Halofuginona; demostrando su valor para la industria avícola y, siendo un indicador del limitado potencial de resistencia acumulado en comparación con los que desaparecieron (De Gussem, 2005).

El estado de resistencia de estos anticoccidiales se puede evaluar utilizando Pruebas de sensibilidad Anticoccidial (PSA) que evalúan la resistencia de un cierto aislado de coccidias a diferentes anticoccidiales (McDougald *et al.*, 1987; Naciri *et al.*, 2004). Los productos químicos son utilizados con el fin de reducir la presión de la infección por la coccidiosis (De Gussem,

2005), en un determinado programa sanitario esperando que tenga un impacto positivo en el rendimiento.

2.6.1.1. Nicarbazina

La nicarbazina es un complejo equimolecular que fue comercializado como el primer anticoccidial de amplio espectro debido a su actividad directa contra la segunda generación de esquizontes en desarrollo y su buena absorción vía oral distribuyéndose a todo el organismo. Es empleada para prevenir la coccidiosis aguda, pero se debe verificar que la concentración sea adecuada, ya que es un compuesto tóxico; mayor al promedio de los anticoccidiales. Además ocasiona baja resistencia, y considerando algunos problemas con los ionóforos, es altamente recomendable para adoptar un sistema de medicación secuencial (Sumano y Gutierrez, 2009).

Cuckler *et al.* (1955) describieron por primera vez la actividad anticoccidial de este complejo que implica 4,4-dinitrocarbanilida (DNC) y 2-hidroxi-4,6-dimetilpirimidina (HDP) y reportaron la eficacia de DNC contra *E. tenella*, *E. acervulina* y *E. necatrix* en pollos; mencionando que esta eficacia mejoraba al menos diez veces cuando se le asociaba con HDP. Sumano y Gutierrez (2009) mencionan que está indicada para prevenir coccidiosis por *E. acervulina*, *E. maxima* y *E. tenella*, entre otras.

Luego, Cuckler *et al.* (1956) probaron que la medicación continua con Nicarbazina en el alimento a 75, 150, y 300ppm, hasta las 12 semanas de edad, fue bien tolerada por los pollos en crecimiento probándose su seguridad; sin embargo la medicación con 600ppm resultó en disminución de la ganancia de peso, aunque no causó mortalidad o signos de toxicidad. En trabajos posteriores probaron que la alimentación continua con Nicarbazina a niveles de 100 a 200ppm fue altamente eficaz en la prevención de infecciones por *E. tenella* y *E. necatrix* en pollos.

Otros estudios confirmaron que la dosis de 125ppm fue altamente eficaz contra *E. tenella* en pollos; pero esta eficacia se reducía sustancialmente cuando la medicación se demoraba más de 24 horas después de la inoculación. (Ott *et al.*, 1956; Gardiner y McLoughlin, 1963). McLoughlin y Wehr (1960) evaluaron la eficacia de esta misma dosis contra *E. tenella* e indicaron que el mayor efecto producido es en contra de la segunda generación de esquizontes; sin embargo las primeras etapas también se vieron afectadas. Además mencionan que el efecto

supresor persistió siempre y cuando se suplementó con este anticoccidial, pero tras su retiro el desarrollo del parásito reanudó.

Horton-Smith y Long (1959) encontraron que esta dosis antes de la infección coccidial fue altamente eficaz en la prevención de la mortalidad contra una infección grave de *E. necatrix*, pero menos eficaz contra una infección grave de *E. acervulina*; y Morrison *et al.* (1961) reportaron que proporciona buena eficacia en base al porcentaje de supervivencia, aumento de peso y score de lesiones contra un inóculo mixto de *E. acervulina*, *E. maxima*, *E. necatrix*, *E. Brunetti*, y *E. tenella* en dos estudios con pollos de engorde en baterías.

Sin embargo, estudios en Estados Unidos demostraron que los aislados de campo fueron resistentes a 125ppm de Nicarbazina, con mayor incidencia de *E. acervulina* y menor, de *E. tenella* (Jeffers, 1974a; 1974b). Las encuestas realizadas en Europa, América Latina y en América del Norte mostraron un aumento lento, en el tiempo, en la incidencia de resistencia a la Nicarbazina entre aislados de campo de *E. acervulina*, *E. maxima* y *E. tenella* (Mathis y McDougald, 1982; Stephan *et al.*, 1997). Esto evidencia que Nicarbazina aún conserva su eficacia con el pasar de los años.

En cuanto a la toxicidad y a los efectos adversos se ha sugerido que algunas veces puede deprimir el crecimiento en pollos de engorde. No hay evidencia de que la dosis de 125ppm cause tal depresión, pero si para dosis mayores (250 y 500ppm), observándose que usando el doble de la dosis aprobada presentan comportamiento de letargo, pérdida de conciencia del medio y andar errático. La susceptibilidad al estrés por calor es otro efecto adverso en los pollos que reciben las dosis aprobadas y que están expuestos a altas temperaturas; respondiendo fisiológicamente por un mecanismo desconocido con el aumento de la tasa metabólica y desarrollo rápido de hipertermia (Sumano y Gutierrez, 2009).

2.6.2. ANTICOCIDIALES IONÓFOROS

El descubrimiento y desarrollo de antibióticos ionóforos poliéter, comenzando con la Monensina en la década de 1970, le dio nueva vida al campo de la prevención y control de la coccidiosis en aves, demostrando que son eficaces. Estos actúan formando complejos lipófilos con cationes como Na⁺, K⁺, Ca⁺⁺ y Mg⁺⁺, y los transportan al interior de las membranas biológicas de las células del parásito (Pressman, 1976; Smith y Strout, 1979) provocándole

modificaciones iónicas (Gumila *et al.*, 1996) y luego su muerte celular. Este mecanismo de acción es similar en los diferentes ionóforos (De Gussem, 2005).

Se clasifican en monovalentes, glucósidos monovalentes y divalentes en base a su selectividad de cationes, capacidad de transporte y estructura (Presmann, 1976; Westley, 1982); así son registrados y comercializados en todo el mundo los ionóforos monovalentes Monensina, Salinomycin, Narasin; los glucósidos monovalentes Maduramicin y Semduramicin y; el ionóforo divalente Lasalocid; y es notable ver que todavía son predominantes en la prevención de la coccidiosis (De Gussem, 2005).

Smith y Strout (1979) realizaron un estudio con *E. tenella* encontrando que los ionóforos provocaron inflamación y destrucción del esporozoito con ningún efecto aparente sobre la célula hospedadora; y llegaron a la conclusión de que su mecanismo destructivo fue dirigido contra la película de membrana del esporozoito.

Los estudios con Monensina, Salinomycin y Lasalocid demostraron que aumentan los niveles de sodio y disminuyen los niveles de potasio en las células animales mediante la alteración de la bomba sodio-potasio en la membrana citoplasmática (Smith y Rozengurt, 1978; Austic y Smith, 1980; Smith y Galloway, 1983). La afluencia de sodio en el parásito supera la capacidad de sus células para eliminarlo, lo que conduce a su muerte (Conway y McKenzie, 2007).

Los estudios que involucran a Lasalocid, Monensina, Narasin y Salinomycin demostraron que el pre tratamiento de *E. tenella* con estos ionóforos inhibe significativamente la capacidad de los esporozoitos de invadir o posteriormente desarrollarse en la célula hospedadora, incluso en ausencia de cualquier fármaco en el entorno de la célula hospedadora (Smith *et al.*, 1981). Estos resultados indicaron que su acción puede depender más de la exposición extracelular de los estadios parasitarios frente a las drogas, que de la exposición dentro de la célula hospedadora (Conway y McKenzie, 2007).

Pero debido a que tienen un índice terapéutico relativamente estrecho en los pollos, el diagnóstico de toxicidad ha sido una preocupación constante, ya que los efectos tóxicos incluyen disminución del apetito, reducción de peso, debilidad de las piernas, diarrea, postración y muerte; siendo los principales hallazgos a la necropsia "cardiomiopatía degenerativa focal,

necrosis del músculo esquelético, e insuficiencia cardíaca congestiva" (Dowling, 1992; Novilla, 1992).

Sin embargo, tienen dos ventajas que contribuyen de manera significativa a su continua eficacia y utilidad en el campo. En primer lugar, su modo de acción no facilita la selección rápida de poblaciones de coccidias resistentes como se ve a menudo con anticoccidiales químicos (Chapman, 1986; Jeffers, 1989; Augustine *et al.*, 1987; Bafundo y Jeffers, 1990). Una explicación para esta lenta adquisición de resistencia a ionóforos es el hecho de que permiten fuga de ooquistes sensibles conduciendo a una selección de resistencia menos estricta que con anticoccidiales químicos (De Gussem, 2005).

La exposición a largo plazo de un solo aislado de coccidia a un ionóforo específico a través de múltiples pasajes puede resultar en la reducción de su eficacia cuando se dan altos niveles del inóculo de ooquistes, derivados de esa población aislada, a las aves medicadas; pero la resistencia completa generalmente no ha ocurrido. Esto difiere de muchos anticoccidiales químicos, en los que la resistencia completa se ha demostrado después de exponer la población de coccidias a la droga por sólo cinco a diez pasajes (Conway y McKenzie, 2007).

Una segunda ventaja es que no controlan completamente la infección en el campo, permitiendo un bajo nivel infeccioso por la población coccidial local. Se ha postulado que las infecciones de bajo nivel observadas bajo condiciones de campo, cuando se utilizan ionóforos, disminuyen la presión selectiva sobre la población coccidial en la granja, y permite un gradual desarrollo de inmunidad a la infección por coccidias en pollos de engorde (Jeffers, 1989; Eckman, 1993; Chapman, 1999).

Así la respuesta inmune al desafío de coccidias junto con la eficacia del ionóforo anticoccidial trabajan juntas para establecer un control continuo de la infección. Puesto que la respuesta inmune actúa con igual efecto contra las cepas susceptibles y resistentes de una población coccidial, la resistencia a los medicamentos también es menos probable que ocurra en estas condiciones (Conway y McKenzie, 2007).

2.6.2.1. Salinomicina

La salinomicina es un antibiótico poliéter ácido monocarboxílico que preferentemente media el transporte de cationes alcalinos monovalentes como Cs⁺, K⁺, Na⁺, Rb⁺, entre otros (Mitani

et al., 1975; 1976); y que fue producida a partir de una cepa de *Streptomyces albus* aislada a partir de una muestra de suelo recogida en la Prefectura de Shizuoka, Japón (Kinashi *et al.*, 1973; 1975; Miyazaki *et al.*, 1974).

La eficacia de Salinomicina se demuestra en un estudio comparativo en el que 60ppm de salinomicina fue igual o más eficaz que 100ppm de monensina y 75ppm de lasalocid contra diferentes combinaciones de *E. acervulina*, *E. mivati*, *E. maxima*, *E. necatrix*, *E. Brunetti*, y *E. tenella* (Migaki, 1979); así también fue demostrado su efecto coccidicida contra esporozoítos y esquizontes, incluyendo etapas de esquizogonia tardías, de *E. acervulina*, *E. maxima*, y *E. tenella* (Chappel, 1979; Conway *et al.*, 1993). Cuando se usó en concentraciones más bajas (44, 55, y 66ppm) no se observaron efectos adversos (Harms y Buresh, 1987).

Este anticoccidial presenta incompatibilidades; así 60ppm de Salinomicina fue incompatible con Tiamulina (125 y 250mg/L) (Frigg *et al.*, 1983; Laczay *et al.*, 1989), y con los antioxidantes tipo Ihydroguinoline que se utilizan para estabilizar las dietas de aves (Proh'aska y Rozsnyai, 1990; Varga *et al.*, 1994); además también es incompatible con Eritromicina, Sulfaclopirazina, Sulfaquinoxalina y Sulfadimetoxina (Dowling, 1992).

2.6.3. ESCORE DE LESIONES

En nuestro país cuando se detectan problemas en los parámetros productivos de las aves, tales como ganancia de peso y conversión alimenticia, se realizan pruebas para evaluar la eficacia anticoccidial en los planteles de crianza (Salinas *et al.*, 1999). Una de estas pruebas es la técnica del escore de lesiones desarrollada por Johnson y Reid (1970) que proporciona una clasificación numérica de las lesiones intestinales macroscópicas causadas por coccidias que va de +0 hasta +4, según el grado de alteraciones anatomopatológicas intestinales. Estos autores mencionan que es uno de los mejores métodos para evaluar las lesiones causadas por las diferentes especies de *Eimerias* en las aves.

Como las características biológicas de *Eimeria* son altamente específicas, tales como el período prepatente, el desarrollo del parásito en áreas determinadas del intestino, el tipo de lesión (Mettiello *et al.*, 2000) y el aspecto morfológico de las diversas etapas endógenas en la mucosa del intestino; esta técnica del escore de lesiones ganó más importancia en la confirmación (Schnitzler *et al.*, 1998) y el diagnóstico preciso de la coccidiosis en pollos (Conway y McKenzie, 1991).

Basado en lo anterior, se considera adecuado para la detección del área específica de lesiones intestinales macroscópicas en diversas partes del intestino afectadas por las especies de *Eimeria*, además estas lesiones macroscópicas están relacionadas con la severidad del brote. Horváth-Papp (2009) menciona que esta técnica es rápida, barata y se puede realizar en cualquier lugar fácilmente; además de ser bastante fiable si se tiene práctica. También menciona que la mejor edad para realizarla es entre los 28-35 días.

Conway *et al.* (1990) demostraron que el score de lesiones representa una medida de la infección por *Eimeria* y las lesiones macroscópicas asociadas; pero que no mide y posiblemente no puede mostrar los cambios fisiopatológicos relacionados con el aumento de peso. Raman *et al.* (2011) confirmaron la importancia del score de lesiones macroscópicas como una herramienta para evaluar la virulencia y patogenicidad de aislados de campo de las especies de *Eimeria*.

Esta técnica fue desarrollada antes de que los anticoccidiales ionóforos llegaran al mercado, cuando sólo estaban disponibles los anticoccidiales químicos que fueron muy efectivos al principio, con score de lesiones cerca de cero; y que cuando el score aumentó a más de 0.1-0.2 fue el indicador de mala homogeneidad del anticoccidial en la mezcla del alimento final o falla del producto.

En cambio, los ionóforos tienen un modo de acción completamente diferente, permitiendo un bajo nivel de lesiones y liberación de ooquistes, lo que favorece el establecimiento de un cierto grado de inmunidad. Por tanto, un nivel de infección bajo se considera normal, e incluso necesario para mantener el sistema inmunológico alerta. Un score promedio de 0.2-0.6 se considera como normal, de 0.6 hasta 0.8 indica un mayor desafío por coccidiosis, y por encima de 1.0 la situación es generalmente crítica. Sin embargo, estos datos deben considerarse en el contexto de la gestión, situación de higiene y el producto anticoccidial aplicado, incluyendo la duración de su uso (Horváth-Papp, 2009).

A pesar de que esta técnica es considerada como una buena herramienta de evaluación, también requiere ajustes para su uso en determinadas condiciones. McDougald *et al.* (1987), en un estudio de sensibilidad de medicamentos para coccidios en Brasil, informó que a pesar de que la mayoría de cepas de *E. acervulina*, *E. maxima*, *E. tenella*, *E. brunetti* y *E. mitis* producen lesiones macroscópicas muy cercanas a la descripción de Johnson y Reid, algunos de los aislados de las diferentes especies locales causaron lesiones distintas a las descritas. Esto fue

respaldado por Raman *et al.* (2011) quienes estandarizaron la técnica del score de lesiones para cepas locales de *Eimeria* de campo en La India.

Descripción de las lesiones intestinales de *Eimeria acervulina*:

E. acervulina comúnmente invade el duodeno y en infecciones con alta carga puede extenderse para infectar niveles inferiores del yeyuno e incluso íleon.

E. acervulina +1. Se trata de una infección leve donde se aprecian lesiones blancas a manera de rayas orientadas transversalmente en forma de escalera en la superficie mucosa del duodeno. Puede causar ligera pérdida de la pigmentación de la piel, pero tiene poco o ningún efecto medible en la ganancia de peso o la conversión alimenticia de las aves infectadas. Bajo el microscopio, un raspado de una de estas lesiones blancas revelaría una masa de ooquistes no esporulados y gametocitos.

E. acervulina +2. Las lesiones blancas en el asa duodenal están más juntas pero todavía son discretas y su orientación de escalera es menos evidente que cuando había menos lesiones. Con una buena fuente de luz, estas placas blancas alargadas transversalmente pueden ser fácilmente reconocidas en la serosa así como en la superficie mucosa. No se observa engrosamiento de la pared duodenal. Al abrir el duodeno se observan las lesiones más claramente. Dicha infección se considera de baja patogenicidad y puede causar cierta depresión en la ganancia de peso en las aves no medicadas.

E. acervulina +3. Las lesiones empiezan a confluir y se reconocen tanto en porciones abiertas y sin abrir del duodeno. Se observa engrosamiento de la pared intestinal, y los contenidos son acuosos debido a la secreción excesiva de moco. Esta condición representa la diarrea consecuente. Con este nivel de infección, disminuye la ganancia de peso y la conversión alimenticia en las aves no medicadas.

E. acervulina +4. El coalescimiento de las lesiones es completo y no se pueden distinguir. Por esta razón, la infección puede ser pasada por alto en un examen superficial. La pared intestinal está considerablemente engrosada, y está cargada de ooquistes. La diarrea, pérdida severa de peso, pobre conversión alimenticia y la pérdida de pigmentación de la piel acompaña dicha infección en las aves no medicadas (Conway y McKenzie, 2007).

Descripción de las lesiones intestinales de *Eimeria maxima*:

Las lesiones por *Eimeria maxima* se encuentran en el intestino medio, y en infecciones graves, pueden extenderse hasta el duodeno y hasta la unión íleo-cecal. *E. maxima* ha sido nombrada así por sus grandes ooquistes (21-42 micras de longitud), además de su color rojo parduzco característico y los restos celulares irregulares en la superficie exterior.

E. maxima +1. En los casos leves, pocas características distintivas son evidentes. Más tarde en el ciclo de vida (sexto y séptimo día), algunas petequias pueden aparecer en la superficie serosa del intestino. Los contenidos intestinales pueden salir ligeramente anaranjados. Este grado de patogénesis puede inducir una pérdida de peso y despigmentación de la piel.

E. maxima +2. La superficie serosa puede mostrar numerosas petequias y los contenidos intestinales pueden ser más anaranjados.

E. maxima +3. El engrosamiento de la pared intestinal puede ser visible en infecciones graves. En infecciones moderadas y graves puede ocurrir un balonamiento, término que indica un intestino distendido grandemente.

E. maxima +4. Puede aparecer contenido intestinal sanguinolento junto con numerosas petequias. Las lesiones de esta especie son más limitadas en el tiempo de su aparición (sexto y séptimo día) que de algunas otras especies. Se establece una sólida inmunidad rápidamente con *E. maxima* en comparación con otras especies. El efecto adverso sobre la pigmentación causada por *E. máxima* puede ser sustancial (Conway y McKenzie, 2007).

Descripción de las lesiones intestinales de *Eimeria tenella*:

Eimeria tenella, conocida como coccidiosis "sangrienta", invade los dos ciegos y en casos graves, también puede parasitar el intestino anterior y debajo de la unión cecal.

E. tenella +1. Se observan pocas petequias dispersas en la serosa, que son de color rojizo o morado. También se observan al abrir el ciego, pero son menos aparentes. Es menos frecuente, pero estas lesiones también pueden extenderse en la parte baja del intestino entre los ciegos. No hay engrosamiento de la pared cecal. Los contenidos cecales suelen mostrar un color marrón normal, aunque puede estar presente una ligera cantidad de sangre. Los pollos infectados pueden mostrar signos clínicos leves.

E. tenella +2. Las petequias, que son evidentes en la superficie serosa, son algo más numerosas. Aparece sangrado en el quinto a séptimo día de la infección siendo más marcado en la superficie de la mucosa. A pesar de algo de sangre, los contenidos cecales son normales. Otra de las características más fiable para juzgar la gravedad es el grosor de la pared cecal, que es ligero en este caso. Los signos clínicos son evidentes en los pollos infectados.

E. tenella +3. El sangrado es más grave, con la aparición de coágulos que se endurecen y se unen al material sanguinolento desprendido de la superficie mucosa formando un núcleo. Los contenidos cecales no son normales y los ciegos prácticamente no son funcionales. La pared cecal muestra un engrosamiento marcado. La serosa del ciego muestra petequias fusionadas y se está erosionando la superficie entera. El aglomeramiento de los pollos y heces con sangre constituyen signos clínicos.

E. tenella +4. Al quinto día de la infección se observan hemorragias graves, una pared cecal muy engrosada, y la erosión de la superficie de la mucosa. El ciego se distiende, con la sangre en el extremo distal. Los pollos se aglomeran dejando de alimentarse y no beben. La muerte puede ocurrir de repente a partir del quinto día post infección, siendo mayor el número en el sexto día y se extiende desde el séptimo al décimo día de la infección.

Para el sexto al octavo día, el núcleo cecal se endurece y puede persistir durante una semana o más. El núcleo puede tomar un tono más blanquecino con una enorme acumulación de material desprendido de la superficie mucosa. Un análisis microscópico de los raspados mostraría muchos ooquistes. En esta etapa se pueden observar ocasionalmente áreas púrpuras que denotan la presencia de gangrena y ruptura de la pared cecal (Conway y McKenzie, 2007).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. MATERIALES

3.1.1. LUGAR Y TIEMPO DE ESTUDIO

El estudio se realizó en el galpón de experimentación del Laboratorio de Patología Aviar de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos ubicado en el Distrito de San Borja, Lima-Perú. La fase experimental se llevó a cabo durante los meses de febrero y marzo del 2014. La crianza se realizó en piso de concreto con cama de viruta de madera de primer uso.

3.1.2. ANIMALES Y ALIMENTACIÓN

Se empleó 600 pollos de engorde machos de un día de edad de la línea Cobb Vantress 500, provenientes de un mismo lote de reproductoras de la misma edad, que se vacunaron en planta de incubación al día de nacidos contra las enfermedades de Marek y Newcastle. En cuanto a la alimentación, se empleó una dieta estándar para pollos de engorde que se administró en dos fases nutricionales diferenciadas: inicio (0-21 días) y crecimiento (22-42 días). El alimento y agua de bebida se administró *ad libitum* de acuerdo a los requerimientos nutricionales según edad y manejo de las aves. No se empleó antibióticos promotores de crecimiento.

3.1.3. PROGRAMA ANTICOCCIDIAL UTILIZADO EN LOS TRATAMIENTOS

El programa anticoccidial consistió en la mezcla de Salinomicina y Nicarbazina, la cual se administró en dos concentraciones: una con 40-40ppm de cada principio activo y otra, más concentrada, de 50-50ppm. Ambas se proporcionaron a las aves, combinadas con el alimento balanceado, en forma continua en la ración diaria desde la recepción de los pollitos hasta los 35 días de edad, respetando el período de retiro de siete días antes de la saca de las aves (42 días de edad). En cuanto a la preparación del alimento, el producto se administró a razón de 0.4 y 0.5Kg de la mezcla anticoccidial por tonelada de alimento por cada tratamiento respectivamente.

Se comprobó las concentraciones y las dosis indicadas de los principios activos, procedimiento que se hizo en cada lote de alimento terminado. Para ello, al finalizar el mezclado, se tomó aleatoriamente tres muestras de 200 gramos (gr) de alimento de cada tratamiento. Se analizó por cromatografía líquida de alta eficacia (Nicarbazina) y por espectrofotometría (Salinomicina) la concentración de cada principio activo y sus dosis (40 o 50ppm).

3.1.4. EQUIPOS Y MATERIALES

Se utilizaron los equipos y materiales del Laboratorio de Patología Aviar, necesarios para el estudio.

3.2. MÉTODOS

3.2.1. DISEÑO EXPERIMENTAL

Las aves se distribuyeron en un diseño completamente aleatorio de cuatro tratamientos experimentales (150 pollos por tratamiento) con seis repeticiones de 25 pollos cada una; distribuidos en un área de 2.25m². La distribución del número de aves en cada corral (repeticion) se realizó respetando los criterios de densidad de aves por área de superficie (densidad aproximada: 15-18 aves/m²) según las directrices de la Asociación Mundial para el Avance de Parasitología Veterinaria (WAAVP) (Holdsworth *et al.*, 2004). Los tratamientos se identificaron como T1, T2, T3 y T4.

DESCRIPCIÓN DE LOS TRATAMIENTOS EXPERIMENTALES

TRATAMIENTO		DOSIS Y PERIODO DE ADMINISTRACIÓN	
T1	Control Negativo (medicado, no desafiado)	0.5Kg./TM alimento (Salinomicina 50ppm + Nicarbazina 50ppm)	0 – 35 días
T2	Control Positivo (no medicado, desafiado)	No medicado	-----
T3	Tratamiento Salinomicina + Nicarbazina - Dosis Menor (medicado, desafiado)	0.4Kg./TM alimento (Salinomicina 40ppm + Nicarbazina 40ppm)	0 – 35 días
T4	Tratamiento Salinomicina + Nicarbazina - dosis mayor (medicado, desafiado)	0.5Kg./TM alimento (Salinomicina 50ppm + Nicarbazina 50ppm)	0 – 35 días

3.2.2. TAMAÑO DE MUESTRA

El tamaño de muestra se calculó mediante la fórmula de Diferencia de Proporciones según:

$$n = \left(\frac{Z_{\alpha} + Z_{\beta}}{p_1 - p_2} \right)^2 * (p_1 q_1 + p_2 q_2)$$

$Z(\alpha)$	=	valor de la tabla para el nivel de confianza especificado
$Z(\beta)$	=	valor de la tabla para el poder especificado
p_1	=	proporción en la población 1
p_2	=	proporción en la población 2
$p_1 \cdot q_1$	=	varianza de la proporción en la población 1 = $p_1 \cdot (1 - p_1)$
$p_2 \cdot q_2$	=	varianza de la proporción en la población 2 = $p_2 \cdot (1 - p_2)$

3.2.3. OBTENCIÓN DE LAS ESPECIES DE EIMERIA DE CAMPO

Para la obtención de las especies de *Eimeria*, los ooquistes se colectaron de aves con brotes de coccidiosis de campo, las cuales fueron positivas al raspado de intestino. Para esto se tomó la muestra de raspado de mucosa y contenido intestinal con una hoja de bisturí y se mezcló con solución de dicromato de potasio al 2.5%. Posteriormente, la mezcla se tamizó con un colador fino.

Luego, se colocó 10mL de la muestra tamizada en tubos de plástico tipo Falcon de 50mL y se añadió solución salina saturada (NaCl) hasta completar el volumen del tubo. Después se centrifugó a una velocidad de 1500 *g* durante 10-15 minutos y se colectó con una pipeta la parte superior del sobrenadante conteniendo los ooquistes. Para luego ser resuspendida en solución de dicromato de potasio al 2.5% para su almacenamiento (Conway y McKenzie, 2007).

3.2.4. DESAFÍO DE LAS AVES

Para el desafío de las aves, se empleó un inóculo con un título estandarizado en el Laboratorio de Patología Aviar conteniendo en total 1mL de ooquistes esporulados de cepas locales de *E. acervulina* (10^5), *E. máxima* (3×10^2) y *E. tenella* (10^4).

Las dosis infectivas de las tres cepas locales contenidas en el inóculo han sido probadas y estandarizadas por el Laboratorio de Patología Aviar (E. Icochea, Lima, comunicación personal). Así, la dosis de *E. tenella* (10^4) fue probada en un estudio en el que se usaron dos dosis infectivas (10^4 y 10^5) en aves criadas en batería, concluyendo que ambas causaban alta mortalidad en pollos de engorde (Cribillero *et al.*, datos no publicados).

El cálculo para determinar el título del inóculo se realizó a través del conteo de ooquistes esporulados usando una cámara de Neubauer.

El desafío de las aves se realizó a los 14 días de edad, para esto se les indujo un estrés hídrico, en el que permanecieron sin acceso al agua de bebida tres horas antes y una hora después del mismo. Luego, las aves se inocularon, de manera individual, mediante una sonda rígida con 1mL del inóculo de ooquistes de las tres cepas locales directamente al buche. Las aves sin desafiar se inocularon de la misma forma con 1mL de agua destilada. El período de

evaluación de los signos clínicos y lesiones a la necropsia de las aves afectadas comprendió entre los 14 y 28 días de edad.

El desafío de las aves se realizó contemplando las normas éticas para la investigación señalada por el Comité de Ética de Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

INÓCULO: 1mL total de ooquistes esporulados de tres cepas locales de Eimeria

- 10^5 ooquistes esporulados de *E. acervulina*
- 3×10^2 ooquistes esporulados de *E. maxima*
- 10^4 ooquistes esporulados de *E. tenella*

3.2.5. PARÁMETROS EVALUADOS

**3.2.5.1. MORTALIDAD, SIGNOS CLÍNICOS Y LESIONES
INTESTINALES MACROSCÓPICAS**

La mortalidad se registró desde el primer día de edad hasta el término del estudio, determinándose la causa de muerte mediante la necropsia y pruebas de laboratorio, de ser necesario.

Los signos clínicos y las lesiones intestinales compatibles con coccidias se evaluaron desde los 14 a 28 días de edad.

Para determinar el score de lesiones intestinales macroscópicas por coccidias se realizó una necropsia al sétimo día post desafío. Se tomó aleatoriamente dos pollos de cada repetición, luego se examinaron clínicamente y se realizó el examen macroscópico del intestino de un total de 48 aves. La evaluación de este órgano consistió en la observación de la serosa, mucosa y contenido intestinal, buscando alteraciones anatomopatológicas a nivel intestinal siguiendo la técnica desarrollada por Johnson y Reid (1970), quienes determinaron un grado de lesiones intestinales macroscópicas para cada especie de Eimeria que va de +0 hasta +4, donde:

- +0 = Normal (ausencia de lesiones)
- +1 = Lesiones leves
- +2 = Lesiones moderadas
- +3 = Lesiones severas
- +4 = Lesiones muy severas, con mortalidad

3.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE DATOS

Los resultados del score de lesiones macroscópicas (duodeno, yeyuno y ciegos) se organizaron como base de datos en una hoja de cálculo de Excel. Posteriormente los datos se ingresaron al programa Stata 12.0 (Stata Corp) para realizar los análisis estadísticos correspondientes. Los valores descriptivos de media, mediana, valores mínimos y máximos se asumieron como datos de distribución no normal, por lo cual las diferencias significativas entre tratamientos en relación a las variables evaluadas se analizaron mediante la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis (nivel de significancia si $p < 0.05$).

IV. RESULTADOS

Las aves se evaluaron diariamente hasta los 14 días posteriores al desafío. Se registró mortalidad, depresión y diarrea; esto último examinando las plumas alrededor de la cloaca en cada una de las aves y, observando la calidad de las heces sobre la cama. A los cinco días post desafío se observó el pico de mayor presentación de signos clínicos encontrándose en el tratamiento T2 los más severos signos de depresión (12.7%), diarrea (26%) y heces sanguinolentas (31.3%) y una mortalidad por coccidiosis de 6.67% al final del estudio, debida principalmente a *E. tenella*. Contrariamente los tratamientos T3 y T4, desafiados y medicados, presentaron menor severidad en signos clínicos y una mortalidad de solo 1.33%. La necropsia de las aves muertas mostró en la mayoría coccidiosis cecal. Las aves no desafiadas del tratamiento T1 no presentaron mortalidad por coccidiosis, demostrando ausencia de contaminación cruzada entre tratamientos (Cuadros 1 y 2).

La evaluación del escore de lesiones intestinales macroscópicas para cada uno de los segmentos evaluados es presentada en el cuadro 3. En el duodeno, el escore de lesiones macroscópicas más alto se encontró en las aves del tratamiento T2 (+3) (promedio=2.8; mediana=3) en comparación a T3 (+1) y T4 (+1). Las aves del tratamiento T1 no mostraron lesiones intestinales. En el yeyuno, todas las aves del tratamiento T2 presentaron escore de lesiones macroscópicas +2, seguido de las aves de T3 (+1) (promedio=0.8; mediana=1) y T4 (+0) (promedio=0.6; mediana=0). Las aves del tratamiento T1 no presentaron lesión intestinal alguna. A nivel del ciego el valor promedio más alto de lesiones macroscópicas se encontró en T2 (+3) (promedio=2.8; mediana=3) seguido por T4 (+3) (promedio=2.6; mediana=3) y T3 (+2) (promedio=1.7; mediana=2). No se observaron lesiones intestinales en las aves de T1.

Cuadro 1. Mortalidad y viabilidad de aves obtenida en los tratamientos evaluados al final del estudio

Valores estadísticos	T1	T2	T3	T4
Mortalidad total	0	11	3	4
% mortalidad	0.00	7.33	2.00	2.67
% viabilidad	100.00	92.67	98.00	97.33
Mortalidad por coccidias	0	10	2	2
% mortalidad por coccidias	0.00	6.67	1.33	1.33

T1: Control negativo tratado con Salinomicina/Nicarbazina 50/50 ppm, T2: Control positivo desafiado-no tratado, T3: desafiado-tratado con Salinomicina/Nicarbazina 40/40 ppm, T4: desafiado-tratado con Salinomicina/Nicarbazina 50/50 ppm.

Cuadro 2. Porcentaje de aves con signos clínicos observados en los tratamientos evaluados a los 5, 9 y 14 d.p.i. (19, 23 y 28 días de edad)

Signos clínicos	5 d.p.i.				9 d.p.i.				14 d.p.i.			
	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4
Depresión	0.0	12.7	0.7	0.7	0.0	1.3	0.0	0.0	0.0	0.7	0.0	0.7
Diarrea	0.0	26.0	16.0	13.3	0.0	7.3	8.0	8.7	0.0	10.0	7.3	9.3
Heces sanguinolentas	0.0	31.3	14.7	9.3	0.0	0.0	0.0	0.7	0.0	0.0	0.0	0.0

T1: Control negativo tratado con Salinomicina/Nicarbazina 50/50 ppm, T2: Control positivo desafiado-no tratado, T3: desafiado-tratado con Salinomicina/Nicarbazina 40/40 ppm, T4: desafiado-tratado con Salinomicina/Nicarbazina 50/50 ppm.
d.p.i.: días post infección

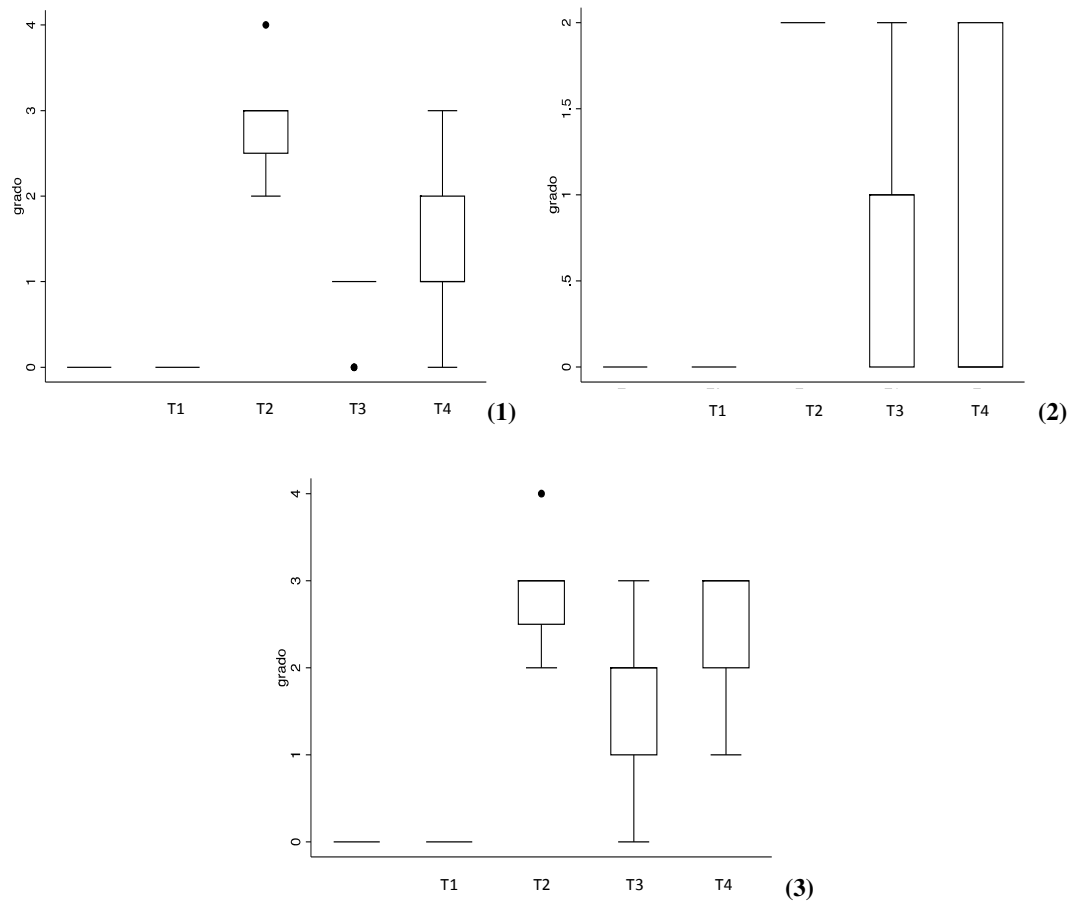
Cuadro 3. Escore de lesiones macroscópicas por coccidias encontrados en los tratamientos evaluados a los siete días post desafío (21 días de edad)

Porción intestinal	T1	T2	T3	T4
Duodeno	0^c	3^b	1^{ac}	1^a
Yeyuno	0^a	2^b	1^{ab}	0^a
Ciego	0^c	3^b	2^b	3^b

T1: Control negativo tratado con Salinomicina/Nicarbazina 50/50 ppm, T2: Control positivo desafiado-no tratado, T3: desafiado-tratado con Salinomicina/Nicarbazina 40/40 ppm, T4: desafiado-tratado con Salinomicina/Nicarbazina 50/50 ppm.

Valores representan la mediana de los tratamientos evaluados en el estudio.

Letras distintas en la misma fila indican diferencias estadísticas significativas ($p < 0.05$).



Gráficas 1, 2 y 3. Representación gráfica de los valores de las medianas de los escore de lesiones a nivel de duodeno (1), yeyuno (2) y ciego (3) (formato de gráficas Stata 12.0).

II. DISCUSIÓN

La coccidiosis en pollos representa grandes pérdidas económicas en la industria avícola local y mundial debido a un déficit de los parámetros productivos a causa de la mala absorción de nutrientes en aves con lesiones en el intestino anterior, medio y posterior, que hacen necesaria la búsqueda de nuevos productos anticoccidiales para prevenir y controlar brotes de esta enfermedad. En el presente trabajo se evaluó el escore de lesiones intestinales macroscópicas por coccidias en pollos de engorde desafiados con cepas locales de *Eimerias* y suplementados con un programa anticoccidial.

Al final del estudio, se encontró un porcentaje de mortalidad por coccidiosis similar (1.33%) en los tratamientos evaluados T3 y T4; siendo menor que T2 (6.67%). Esto sugiere que ambas dosis del programa anticoccidial tienen similar efecto protector frente a este parámetro. Este resultado difiere del estudio realizado por Ascencio *et al.* (1997) que no encontraron mortalidad por coccidiosis cuando evaluaron dos tratamientos (T1: Robenidina 50ppm y Semduramicina 10ppm; y T2: Semduramicina 4.5ppm, Salinomicina 10ppm, Monensina 16ppm y Nicarbazina 62.5ppm). Las diferencias probablemente se deban a la mezcla de cuatro anticoccidiales distintos y al uso de dosis diferentes a las descritas en este estudio.

En cuanto al porcentaje de mortalidad total se encontró ligera diferencia entre los tratamientos evaluados, T3 y T4 (2% y 2.6% respectivamente). Este porcentaje de mortalidad incluyó coccidiosis y otras causas de muerte como transporte inadecuado, aplastamiento y asfixia por aglomeración, fluctuaciones de temperatura, entre otros factores estresantes. Este resultado concuerda con el trabajo de Ascencio *et al.* (1997) quienes obtuvieron porcentajes de mortalidad acumulado en T1 y T2 de 6% y 2.5%, respectivamente; cuando evaluaron actividad sinérgica con dos tipos de anticoccidiales, atribuyéndose la causa de muerte a ascitis.

Se observó que el pico de mayor presentación de signos clínicos ocurrió al quinto día post desafío. Esto coincide con lo manifestado por Hammond y Long (1973) en que los signos clínicos inician principalmente entre los cinco y seis días después de la infección. El porcentaje de aves con depresión fue similar (0.7%) en ambos tratamientos evaluados T3 y T4, sin embargo estos mostraron diferencias en cuanto a porcentajes de aves con diarrea, 16% y 13.3% respectivamente; que coincide con el mayor escore de lesiones en yeyuno. El porcentaje de aves con heces sanguinolentas fue igualmente mayor en T3 (14.7%) que en T4 (9.3%). A los cinco días post desafío las aves de T4 mostraron menor porcentaje de signos clínicos que T3. Hacia los días 9 y 14 post desafío los signos de depresión y heces sanguinolentas disminuyeron en ambos tratamientos T3 y T4. Esto puede deberse a que los pollos fueron desarrollando inmunidad frente a las cepas locales con las que se los desafió, coincidiendo con Calnek (1997) que menciona que las aves que sobreviven los primeros días de la infección, pueden sobrevivir los próximos 10 a 15 días debido a que adquieren inmunidad.

Por otro lado, la diarrea persistió en ambos tratamientos; siendo mayor el porcentaje en T4. Esto puede deberse a procesos bacterianos concomitantes con el cuadro de coccidiosis que afectaron el tracto intestinal causando diarreas persistentes, ya que en este estudio no se utilizaron antibióticos promotores de crecimiento. Esto coincide con lo reportado por Pomiano (2000) en que generalmente ocurren infecciones mixtas con bacterias como *Cl. Perfringens*, *Salmonella sp.* o *E. coli*, que proliferan debido a desequilibrios en la flora intestinal producto de la coccidiosis. Además, Van der Stroom y Van der Sluis (1999) mencionaron que estas infecciones mixtas ocurren con mayor frecuencia cuando no se usan antibióticos promotores de crecimiento. Es importante mencionar que en este aspecto la humedad de la cama juega un papel muy importante al constituir un foco infeccioso permanente.

En duodeno y yeyuno, el escore de lesiones intestinales macroscópicas en los tratamientos T3 (+1) y T4 (+0) representaron lesiones intestinales leves y ausencia de lesiones intestinales respectivamente, esto posiblemente debido a que se usó un ionóforo en la mezcla anticoccidial que no controla completamente la infección en el campo, es decir, permite un bajo nivel de infección por la población coccidial local y con esto, un gradual desarrollo de inmunidad a la infección por coccidias en pollos de engorde (Jeffers, 1989; Eckman, 1993; Chapman, 1999). Los resultados del escore de lesiones intestinales macroscópicas obtenido en los tratamientos T3 y T4 comparados con el tratamiento T2 con escore de lesiones en duodeno +3 y en yeyuno +2 evidencian claramente que la mezcla anticoccidial utilizada en este estudio redujo significativamente el escore de lesiones intestinales macroscópicas a nivel del intestino anterior

y medio; obteniéndose en el yeyuno un escore de lesiones de +0 con el tratamiento T4, que representa ausencia de lesiones intestinales. A nivel del duodeno, se observaron diferencias significativas en relación a las medianas del escore de lesiones entre los tratamientos T1 y T2, T2 y T3, y entre T2 y T4 ($p<0.05$); lo mismo que en el yeyuno, entre los tratamientos T1 y T2; y entre T2 y T4 ($p<0.05$).

En relación al ciego, los tratamientos T2 y T4 presentaron un mayor escore de lesiones intestinales macroscópicas +3 lo que representa lesiones severas, seguida del tratamiento T3 con escore +2 que representa lesiones moderadas. Estos resultados evidencian que la mezcla anticoccidial fue menos efectiva para el control de *Eimeria tenella*, evidenciándose en la menor reducción del escore de lesiones en ciego. Esta menor reducción puede deberse a la generación de resistencia anticoccidial. El análisis estadístico demostró diferencias significativas entre las medianas del escore de lesiones intestinales entre los tratamientos T1 y T2, T1 y T3, T1 y T4 ($p<0.05$).

Independientemente de la dosis, los resultados obtenidos en este estudio con el uso de Salinomicina en combinación con Nicarbazina demuestran que existe un importante sinergismo para controlar *E. acervulina* y *E. maxima* que afectan los parámetros productivos de pollos de engorde (coccidiasis) sin efectos secundarios notables, lo cual concuerda con lo mencionado por otros autores (Conway *et al.*, 1993; Danforth *et al.*, 1987; Kinasshi *et al.*, 1973).

III. CONCLUSIONES

En pollos de engorde, frente a un desafío con especies patógenas locales de *E. acervulina* (10^5 ooquistes), *E. maxima* (3×10^2 ooquistes) y *E. tenella* (10^4 ooquistes), el tratamiento anticoccidial (Salinomicina / Nicarbazina / dosis de 40 o 50 ppm) demostró:

- Una significativa reducción de la mortalidad y signos clínicos por coccidiosis.
- Una significativa reducción del score de lesiones intestinales macroscópicas de *Eimeria acervulina* y *Eimeria maxima*, mas no de *Eimeria tenella*.

IV. RECOMENDACIONES

Se recomienda realizar otros estudios para determinar cómo influye el resultado del escore de lesiones intestinales macroscópicas por cepas de *Eimerias* locales sobre los parámetros productivos de las aves.

V. LITERATURA CITADA

1. *Alcaíno H, Gorman T. 1999. Parásitos de los Animales Domésticos de Chile. Parasitología día 23. [Internet], [1 mayo 2015]. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-07201999000100006*
2. *Allen PC, Fetterer RH. 2002. Recent Advances in Biology and Immunobiology of Eimeria Species and in Diagnosis and Control of Infection with These Coccidian Parasites of Poultry. Clin. Microbiol. Rev. 15(1): 58-65.*
3. *Ascencio M, Guerrero N, Pérez J. 1997. Efecto de la inclusión de Robenidina Senduramicina, Monensina, Salinomycin y Nicarbazina en dietas prácticas para pollos de engorda de 0 a 49 días de edad. Tesis en Medicina Veterinaria. Jalisco. Univ. De Guadalajara. 26 p.*
4. *Augustine PC, Smith CK, Danforth HD, Ruff MD. 1987. Effect of ionophorous anticoccidials on invasion and development of Eimeria: comparison of sensitive and resistant isolates and correlation with drug uptake. Poultry Sci 66: 960-965.*
5. *Austic RE, Smith JB. 1980. Interaction of ionophores with nutrients. En: Proceedings of the Georgia Nutrition Conference. Atlanta. 2-10 p.*
6. *Bains B. 1979. A manual of poultry diseases. 1ª ed. Basilea: Ediciones Roche. 297 p.*
7. *Bafundo KW, Jeffers TK. 1990. Selection for resistance to monensin, nicarbazin, and the monensin plus nicarbazin combination. Poultry Science 69: 1485-90.*

8. *Bedrník P, Jurković P, Kucera J, Firmanová A. 1989.* Cross resistance to the ionophorous polyether anticoccidial drugs in *Eimeria tenella* isolates from Czechoslovakia. *Poultry Science* 68(1): 89-93.
9. *Bedrník P. 1989.* The role of different *Eimeria* species in a prospective coccidiosis vaccine. In: Yvone P, ed. *Coccidia and Intestinal Coccidiomorphs: 5th International Coccidiosis Conference*. 1^a ed. France: INRA Editions. p 667-672.
10. *Borchert A. 1981.* *Parasitología Veterinaria*. 3^a ed. Zaragoza: Acribia. p 745.
11. *Braunius WW. 1980.* Monitoring the biological performance in broiler with special regard to subclinical coccidiosis. *Archiv für Geflügelkunde* 44: 183-187.
12. *Bruce E. 2002.* Evaluación experimental de la eficacia de una vacuna trivalente atenuada contra la coccidiosis aviar causada por *Eimeria tenella*, *E. acervulina* y *E. maxima* en pollos de engorde en Venezuela. Tesis de Maestría en Medicina Veterinaria. Maracay. Univ. Central de Venezuela. 110 p.
13. *Calnek M. 1997.* Parasitic Disease. En: Saif YM, ed. *Disease of Poultry*. 10th ed. Iowa State: Blackwell Publishing. p 1067-1120.
14. *Chapman HD. 2007.* Rotation programmes for coccidiosis control. *International Poultry Production*. 15: 7-9.
15. *Chapman HD. 2005.* Perspectives for the control of coccidiosis in poultry by chemotherapy and vaccination. In: *Proceedings of the 9th International Coccidiosis Conference*. Paraná: FUNDACAO APINCO DE CIENCIA E TECNOLOGIA AVICOLAS. [Internet], [15 marzo 2015]. Disponible en: <http://www.coccidia.icb.usp.br/icc9/proceedings/Proceedings-ICC9.pdf#page=99>.
16. *Chapman HD. 2003.* Origins of coccidiosis research in the fowl - The first fifty years. *Avian Diseases* 47: 1-20.
17. *Chapman HD, McFarland JL. 2003.* Rotation Programs with Diclazuril and a coccidiosis vaccine. In: *Proceedings 52nd WESTERN POULTRY DISEASE*

CONFERENCE - WPDC, Sacramento. [Internet], [15 marzo 2015]. Disponible en:
http://www.acpv.info/assets/WPDC/wpdcproceedings_2003.pdf#page=24.

18. *Chapman HD, Cherry T, Danforth H, Richards G, Shirley M, Williams R. 2002. Sustainable coccidiosis control in poultry production: the role of live vaccines. International Journal for Parasitology 32: 617-629.*
19. *Chapman HD. 1999. Anticoccidial drugs and their effects upon the development of immunity to Eimeria infections in poultry. Avian Pathol 28: 521-35.*
20. *Chapman HD. 1986. Drug resistance in coccidia: recent research. En: McDougald LR, Joyner LP, Long PL, eds. Research in Avian Coccidiosis: Proceedings of the Georgia Coccidiosis Conference. Athens: University of Georgia.*
21. *Chappel LR. 1979. The site of action of the anticoccidial salinomycin (Coxistac). J Parasitol 65: 137-43.*
22. *Conway DP, McKenzie ME. 2007. Preparation of Oocysts. In: Poultry Coccidiosis. Diagnostic and Testing Procedures. 3^a ed. New York: Pfizer Inc. p 42-48.*
23. *Conway DP, Johnson JK, Guyonnet V, Long PL, Smothers CD. 1993. Efficacy of semduramicin and salinomycin against different stages of Eimeria tenella and E. acervulina in the chicken. Vet Parasitol 45: 215-29.*
24. *Conway DP, McKenzie ME. 1991. Examination of lesions and lesion scoring. In: Poultry Coccidiosis. Diagnostic and Testing Procedures. 2^a ed. New York: Pfizer Inc. p 17-36.*
25. *Conway DP, McKenzie ME, Dayton AD. 1990. Relationship of coccidial lesion scores and weight gain in infections of Eimeria. Avian Pathol. 19: 489-496.*
26. *Cuckler, AC, Malanga CM, Ott WH. 1956. The antiparasitic activity of nicarbazin. Poultry Sci 35: 98-109.*

27. Cuckler, AC, Malanga CM. 1955. Studies on drug resistance in coccidia. J Parasitol 41:302-11.
28. Danforth HD, Ruff MD, Reid WM, Miller RL. 1987. Anticoccidial activity of salinomycin in battery raised broiler chickens. Poultry Sci 56: 926-932.
29. Daszak P. 1999. Zoite migration during *Eimeria tenella* infection: parasite adaption to host defences. Parasitology Today 2: 67-72.
30. De Gussem M. 2005. Coccidiosis control in poultry: importance of the quality of anticoccidial premixes. In: Proceedings of the 9th International Coccidiosis Conference. Paraná: FUNDACAO APINCO DE CIENCIA E TECNOLOGIA AVICOLAS. [Internet], [15 marzo 2015]. Disponible en: <http://www.coccidia.icb.usp.br/icc9/proceedings/Proceedings-ICC9.pdf#page=99>.
31. Del Cacho E, Bosch MP. 2014. Coccidiosis: La enfermedad, consecuencias y tratamiento. Selecciones avícolas 56(2): 13-17.
32. Del Cacho E, Sierra MA, Sánchez –Acedo C. 1999. Coccidiosis aviar. En: Cordero del Campillo, ed. Parasitología veterinaria. 1ª ed. México: Mc-Graw Hill Interamericana. p 757-768.
33. Dimitrijević S, Ilić T. 2003. Najvažniji aspekti imunogenosti *Eimeria* spp. Veterinarski glasnik 57: 505-508.
34. Dowling L. 1992. Ionophore toxicity in chickens: a review of pathology and diagnosis. Avian Pathol 21: 355-368.
35. Eckman MK. 1993. Horizontal vs. vertical health programs in broiler production. Poultry Digest 52(8): 16-22.
36. Ellis J, Bumstead J. 1990. *Eimeria* species: studies using rRNA and rDNA probes. Parasitology 101(1): 1-6.

37. Frigg M, Broz J, Weber G. 1983. Compatibility studies of ionophore anticoccidials with various antibiotics and chemotherapeutics in broiler chicks. Archiv Gefl ¨ ugelk 47: 213–20.
38. Gardiner JL, McLoughlin DK. 1963. The comparative activity of certain coccidiostats in experimental *Eimeria tenella* infections. Poultry Sci 42: 932–35.
39. Glazer EA, Cullen WP, Frame GM, Goudie AC, Koss DA, Olso JA, Ricketts AP, Tynan EJ, Walshe ND, Wernaun WC, Schaf TK. 1993. Semduramicin: Design and preparation of a new anticoccidial ionophore by semisynthesis and mutasynthesis. Dev. Ind. Microbiol. 32:133-139.
40. Gumila C, Ancelin M, Jeminet G, Delort M, Miguel G, Vial H. 1996. Differential in vitro activities of ionophore compounds against Plasmodium falciparum and mammalian cells. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 40: 602-608.
41. Hammond DM, Long PL. 1973. The Coccidia: Eimeria, Isospora, Toxoplasma and related genera. 1^a ed. London: Butterworths Ed. 482 p.
42. Harms RH, Buresh RE. 1987. Influence of salinomycin on the performance of broiler chicks. Poultry Sci 66: 51–54.
43. Hofstad MS. 1984. Parasitic Disease. En: Saif YM, ed. Disease of Poultry. 10th ed. Iowa State: Blackwell Publishing. p 1011-1120.
44. Holdsworth PA, Conway DP, McKenzie ME, Dayton AD, Chapmand HD, Mathis GF, Skinner JT, Mundtg HC, Williams RB. 2004. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP) guidelines for evaluating the efficacy of anticoccidial drugs in chickens and turkeys. Veterinary Parasitology 121: 189–212.
45. Horton-Smith C, Long PL. 1959. The effects of different anticoccidial agents on the intestinal coccidiosis of the fowl. J Comp Pathol Therap 69: 192–207.
46. Horváth-Papp I. 2009. Coccidiosis Lesion Scoring. Austria: Pannon Poultry Services (PPS). [Internet], [1 de setiembre del 2014]. Disponible en: <http://www.poultry.hu>.

47. Jeffers TK. 1989. Anticoccidial drug resistance: a review with emphasis on the polyether ionophores. In: Yvone P, ed. Coccidia and Intestinal Coccidiomorphs: 5th International Coccidiosis Conference. 1^a ed. France: INRA Editions. p 295–308.
48. Jeffers TK. 1974a. *Eimeria acervulina* and *E. maxima*: incidence and anticoccidial drug resistance of isolants in major broilerproducing areas. Avian Dis 18: 331–42.
49. Jeffers TK. 1974b. *Eimeria tenella*: incidence, distribution and anticoccidial drug resistance of isolants in major broilerproducing areas. Avian Dis 18: 74–84.
50. Johnson J, Reid WM. 1970. Anticoccidial Drugs: Lesion scoring techniques in battery and floor-pen experiments with chicken. Exp. Parasitol. 28: 30-36.
51. Jordan FWT, Pattison M. 1996. Parasitic Disease. En: Saif YM, ed. Disease of Poultry. 10th ed. Iowa State: Blackwell Publishing. p 1011-1120.
52. Jordan FWT. 1990. Parasitic Disease. En: Saif YM, ed. Disease of Poultry. 9th ed. Iowa State: Blackwell Publishing. p 1011-1120.
53. Keshavarz K, McDougald LR. 1982. Anticoccidial drugs: Growth and performance depressing effects in young chickens. Poultry Science 61: 699-705.
54. Kinashi H, Otake N, Yonehara H, Sato S, Saito Y. 1975. Studies on the ionophorous antibiotics. I. The crystal and molecular structure of salinomycin *p*-iodophenacyl ester. Acta Cryst 31: 2411–2415.
55. Kinashi H, Otake N, Yonehara H, Sato S, Saito Y. 1973. The structure of salinomycin, a new member of the polyether antibiotics. Tetrahedron Letters 49: 4955–4958.
56. Laczay P, Simon F, M'ora Zs, Lehel J. 1989. Comparative studies on the toxic interaction of the ionophorous anticoccidials with tiamulin in broiler chicks. Archiv für Geflügelkunde 54(4): 129-132.
57. Lawn AM, Rose ME. 1982. Mucosal transport of *Eimeria tenella* in the cecum of the chicken. Journal of Parasitology 68: 1117-1123.

58. *Lilic S, Ilic T, Dimitrijevic S. 2009. Kokcidioza u proizvodnji živine. Tehnologija mesa* 50: 90-98.
59. *Long PL, Johnson J, McKenzie ME. 1988. Anticoccidial activity of combinations of narasin and nicarbazin. Poultry Sci* 67: 248-252.
60. *Long PL, Millard BJ, Joyner LP, Norton CC. 1976. A guide to the laboratory techniques used in the study and diagnosis of avian coccidiosis. Folia Vet. Lat.* 6: 201-217.
61. *Marien M, De Gussem M, Vancraeynest D, Fort G, Naciri M. 2007. Indication of cross-resistance between different monovalent ionophores as determined by an anticoccidial sensitivity test (AST). In: Proceedings 16th European Symposium on Poultry Nutrition. Strasbourg: World Poultry Science Association – WPSA. [Internet], [1 de noviembre del 2014]. Disponible en: <http://www.cabi.org/Uploads/animal-science/worlds-poultry-science-association/WPSA-france-2007/50.pdf>.*
62. *Martín A. 2002. Inmunología, diagnóstico y Clínica en Parasitología. [Internet], [1 de noviembre del 2014]. Disponible en: <http://myslide.es/documents/revision-bibliografica-de-la.html>.*
63. *Mathis GF, Broussard C. 2006. Increased level of Eimeria sensitivity to diclazuril after using a live coccidial vaccine. Avian Diseases* 50: 321-324.
64. *Mathis GF, McDougald LR. 1982. Drug responsiveness of field isolates of chicken coccidia. Poultry Sci* 61: 38-45.
65. *McDougald LR. 2003. Parasitic Disease. In: Saif YM, ed. Disease of Poultry. 11th ed. Ames Iowa USA: Blackwell Publishing. p 1011-1120.*
66. *McDougald LR. 1997. Coccidiosis. In: Calnek W, ed. Diseases of poultry 10^a ed. Ames Iowa USA: Blackwell Publishing. p 865-878.*

67. McDougald LR, Da Silva JM, Braga SJ. 1987. A survey of sensitivity to anticoccidial drugs in 60 isolates of coccidia from broiler chickens in Brazil and Argentina. *Avian Dis* 31: 287-292.
68. McDougald LR, Conway DP. 1984. A field outbreak of coccidiosis in broilers caused by *Eimeria necatrix*. *Malaysian Vet J*. 8: 24–26.
69. McLoughlin DK, Wehr EE. 1960. Stages in the life cycle of *Eimeria tenella* affected by nicarbazin. *Poultry Sci* 39: 534–538.
70. Mettiello R, Boviez JD, McDougald LR. 2000. *Eimeria brunetti* and *E. necatrix* in chickens of Argentina and confirmation of seven species of *Eimeria*. *Avian Dis* 44: 711-714.
71. Migaki TT, Chappel LR, Babcock WE. 1979. Anticoccidial efficacy of a new polyether antibiotic, salinomycin, in comparison to monensin and lasalocid in battery trials. *Poultry Sci* 58: 1192–1196.
72. Mitani M, Yamanishi T, Miyazaki Y, Otake N. 1976. Salinomycin effects on mitochondrial ion translocation and respiration. *Antimicrobial Agents Chemotherapy* 9: 655–660.
73. Mitani M, Yamanishi T, Miyazaki Y. 1975. Salinomycin: A new monovalent cation ionophore. *Biochem Biophys Res Commun* 66: 1231–1216.
74. Miyazaki Y, Shibuya M, Sugawara H, Kawaguchi O, Hirose C, Nagatsu J, Esumi S. 1974. Salinomycin. A new polyether antibiotic. *J Antibiot* 27: 814–821.
75. Montoya A, Quiroz M. 2013. Field Experience in the USA of a Concurrent Use of Coccidiosis Vaccine in Combination with Ionophores in the Feed of Broiler Chickens. In: 18th World Veterinary Poultry Association Congress. Nantes: World Veterinary Poultry Association Congress. [Internet], [10 de febrero del 2015]. Disponible en: <http://www.novusint.com/Portals/0/Documents/3628%20Field%20Experience.pdf>.

76. *Morrison WD, Ferguson AE, Connell MC, McGregor JK. 1961.* The efficacy of certain coccidiostats against mixed avian coccidial infections. *Avian Dis* 5: 222–28.
77. *Naciri M, Chaussé AM, Fort G, Bernardet N, Nérat F, De Gussem K. 2004.* Value of anticoccidial sensitivity tests (ASTs) in the prevention of chicken coccidiosis. In: XXII World's Poultry Congress. Istanbul: Word's Poultry Congresses.
78. *Novilla MN. 1992.* The veterinary importance of the toxic syndrome induced by ionophores. *Vet Hum Toxicol* 34: 66–70.
79. *Ott WH, Kuna S, Porter CC, Cuckler AC, Fogg DE. 1956.* Biological studies on nicarbazin, a new anticoccidial agent. *Poultry Sci* 35: 1355–1367.
80. *Paganini F. 2005.* Alternatives to drugs in poultry feed and their impact on food safety. In: 11th European Symposium on the Quality of Eggs and Egg Products. Doorwerth: Schering-Plough Animal Health Corporation. [Internet], [20 de junio del 2015]. Disponible en: <http://www.cabi.org/Uploads/animal-science/worlds-poultry-science-association/WPSA-the-netherlands-2005/6.pdf>.
81. *Peek H, Landman W. 2006.* Resistance to anticoccidial drugs of Dutch avian *Eimeria* spp. field isolates originating from 1996, 1999 and 2001. *Avian Pathology* 32: 391–401.
82. *Pomiano, J. 2000.* Interacciones de las coccidias y los anticoccidiales en la nutrición del pollo de engorde. *Mundo avícola y porcino* 33: 13-15.
83. *Pressman BC. 1976.* Biological applications of ionophores. *Ann Rev Biochem* 45: 501–30.
84. *Prokunier JD, Fernando MA, Barta JR. 1993.* Species and strain differentiation of *Eimeria* spp. of the domestic fowl using DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers. *Parasitol. Res.* 79: 98–102.
85. *Prohászka L, Rozsnyai T. 1990.* Potentiation of the anticoccidial effect of salinomycin with dihydroguinolinetyp antioxidant. *Avian Pathol* 19: 15–21.

86. *Raman M, Banu SS, Gomathinayagam S, Raj GD. 2011. Lesion scoring technique for assessing the virulence and pathogenicity of Indian field isolates of avian Eimeria species. Veterinarski Arhiv 81: 259-271.*
87. *Razmi GR, Ali Kalideri G. 2000. Prevalence of subclinical coccidiosis in broiler-chicken farms in the municipality of Mashhad, Khorasan, Iran. Preventive Veterinary Medicine 44:247-253.*
88. *Reid WM. 1978. Coccidiosis. In: Hofstad MS, Calnek BW, Helmboldt CF, Reid WM, Yoder HW, eds. Diseases of Poultry. 7^a ed. Ames Iowa USA: Blackwell Publishing. p 784–815.*
89. *Rojó ME. 1996. Coccidiosis. En: Enfermedades de las aves. 2^a ed. México: Editorial Trillas. p 103-110.*
90. *Ruff MD. 1991. An overview of control measures for coccidiosis – present and future. In: Proceedings of the Seventh International Poultry Breeders' Conference. Auchincruive, UK. p 29-38.*
91. *Salinas M, Icochea E, Casas E, Falcón N, Reyna P. 1999. Niveles de ooquistes de Eimeria en cama y su relación con las lesiones intestinales en pollos broiler. Rev Inv Vet Perú 12. [Internet], [25 de octubre del 2014]. Disponible en: http://sisbib.unmsm.edu.pe/BvRevistas/veterinaria/v12_n1/niv_ooquis.htm.*
92. *Schnitzler BE, Thebo PL, Mattsson JG, Tomley FM, Shirley MW, Uggla A. 1998. Diagnosis of poultry Eimeria: from Lesion scoring to nucleotide sequences. Parasitol. Int 47: 71-95.*
93. *Schnitzler BE, Thebo P, Tomley FM, Shirley MW, Uggla A. 1997. Identification of Eimeria sp in poultry by in vitro amplification of the internal transcribed spacer 1. In: Shirley MW, Tomley FM, Freeman BM, eds. Control of coccidiosis into the next millennium. Proc. VII Int. Coccidiosis Conf. p 64.*
94. *Shirley MW, Harvey DA. 1996. Eimeria tenella: genetic recombination of markers for precocious development and arprinocid resistance. Appl. Parasitol 37: 293–299.*

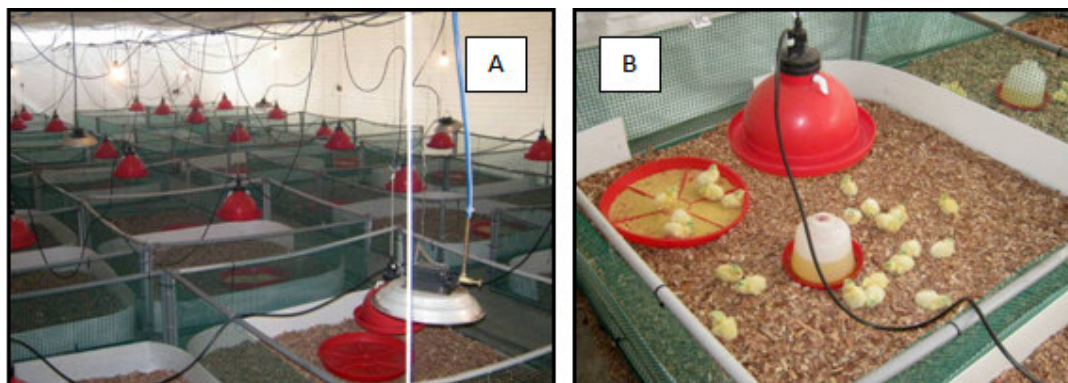
95. Shirley MW. 1986. New methods for the identification of species and strains of *Eimeria*. In: McDougald LR, Long PL, Joyner LP, eds. Research in avian coccidiosis. Athens: University of Georgia. Dept. of Poultry Science. p 19-21.
96. Shirley MW, Millard BJ. 1986. Studies on the immunogenicity of seven attenuated lines of *Eimeria* given as a mixture to chickens. Avian Pathol 15: 629-638.
97. Shirley MW. 1975. Enzyme variation in *Eimeria* species of the chicken. Parasitology 71:369–376.
98. Šibalić S, Cvetković Lj. 1996. Parazitske bolesti domaćih životinja. 1^a ed. Beograd: Veterinarski fakultet. 421 p.
99. Smith CK, Galloway RB. 1983. Influence of monensin on cation influx and glycolysis of *Eimeria tenella* sporozoites *in vitro*. J Parasitol 69: 666–670.
100. Smith CK, Galloway RB, White SL. 1981. Effect of ionophores on survival, penetration, and development of *Eimeria tenella* sporozoites *in vitro*. J Parasitol 67: 511–516.
101. Smith CK, Strout RG. 1979. *Eimeria tenella* accumulation and retention of anticoccidial ionophores by extracellular sporozoites. Exp Parasitol 48: 325–330.
102. Smith JB, Rozengurt E. 1978. Serum stimulates the Na-K pump in quiescent fibroblasts by increasing Na entry. Proc National Academy of Sci 75: 5560–5564.
103. Sorensen JT, Edwards S, Noordhuizen J, Gunnarsson S. 2006. Animal production systems in the industrialised world. Scientific and Technical Review OIE 25: 493-503.
104. Soulsby E. 1987. Coccidiosis. En: Parasitología y Enfermedades Parasitarias en los Animales Domésticos. 7^a edición. México: Ed. Interamericana. p 639-658.
105. Stephan B, Rommel M, Dauschies A, Haberkorn A. 1997. Studies of resistance to anticoccidials in *Eimeria* field isolates and pure *Eimeria* strains. Vet Parasitol 69: 19–29.

106. *Sumano H, Gutierrez L. 2009. Antiparasitarios. En: Farmacología Clínica en Aves. 3ª ed. Mexico: Editorial Interamericana. p 365-454.*
107. *Van der Stroom JH, Van der Sluis W. 1999. The effect of intercurrent diseases on coccidiosis. World Poultry, Special Supplement Coccidiosis 3: 15-17.*
108. *Varga I, Laczay P, Lehel J, M'ora Z, Romváry A, Fekete J. 1994. Potentiation of ionophorous anticoccidiales with dihydroquinolines: battery trials against *Eimeria tenella* in chickens. Int J Parasitol 24: 689-694.*
109. *Voeten AC. 1987. Coccidiosis: a problem in broilers. In: Verstegen MW, Henken AM, eds. Energy Metabolism in Farm Animals: Effect of Housing, Stress and Disease. 1ª ed. Dordrecht, The Netherlands: Martinus Nijhoff Publishers. p 410-422.*
110. *Weppelman RM, Olson G, Smith DA, Tamas T, Van Iderstine A. 1977. Comparison of anticoccidial efficacy, resistance and tolerance of narasin, monensin and lasalocid in chicken battery trials. Poultry Science 56: 1550-1559.*
111. *Williams RB. 2002. Anticoccidial vaccines for broiler: pathways to success. Avian Pathology 31: 317-353.*
112. *Williams RB. 1999. A compartmentalised model for the estimation of the cost of coccidiosis to the world's chicken production industry. International Journal for Parasitology 28: 1089-1098.*
113. *Williams RB. 1995. Epidemiological studies of coccidiosis in the domestic fowl (*Gallus gallus*). II. Physical condition and survival of *Eimeria acervulina* oocysts in poultry house litter. Appl. Parasitol 36: 90-96.*

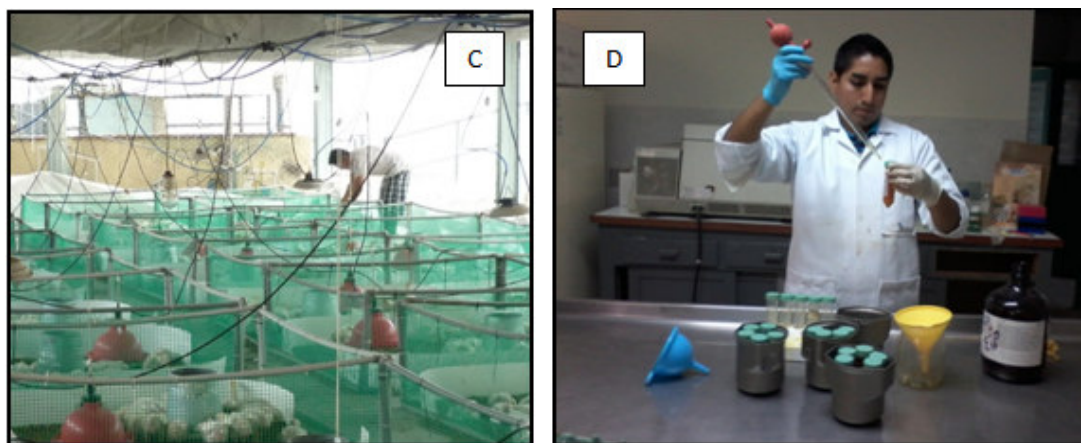
VI. APÉNDICE

APÉNDICE 1

**Galpón experimental y Laboratorio de Patología Aviar de la FMV-UNMSM,
donde se realizó el estudio**



A. Distribución de las unidades experimentales y equipos de crianza. B. Unidad experimental con pollos a la recepción. Uso de cerco perimétrico de plástico para evitar contaminación cruzada entre tratamientos.



A. Manejo de las aves durante la crianza (tesista). D. procesamiento de coccidias en el Laboratorio de Patología aviar.

APÉNDICE 2

Signos clínicos observados en el tratamiento T2 (control positivo) a los seis días post desafío con coccidias



A, B. Aves del grupo control positivo (T2) con evidentes signos de debilidad y depresión a los SEIS días post desafío.
C, D. Presencia de heces sanguinolentas en la cama de aves como consecuencia de la infección por *E. tenella*.

Signos clínicos observados en T3 y T4 a los seis días post desafío con coccidias



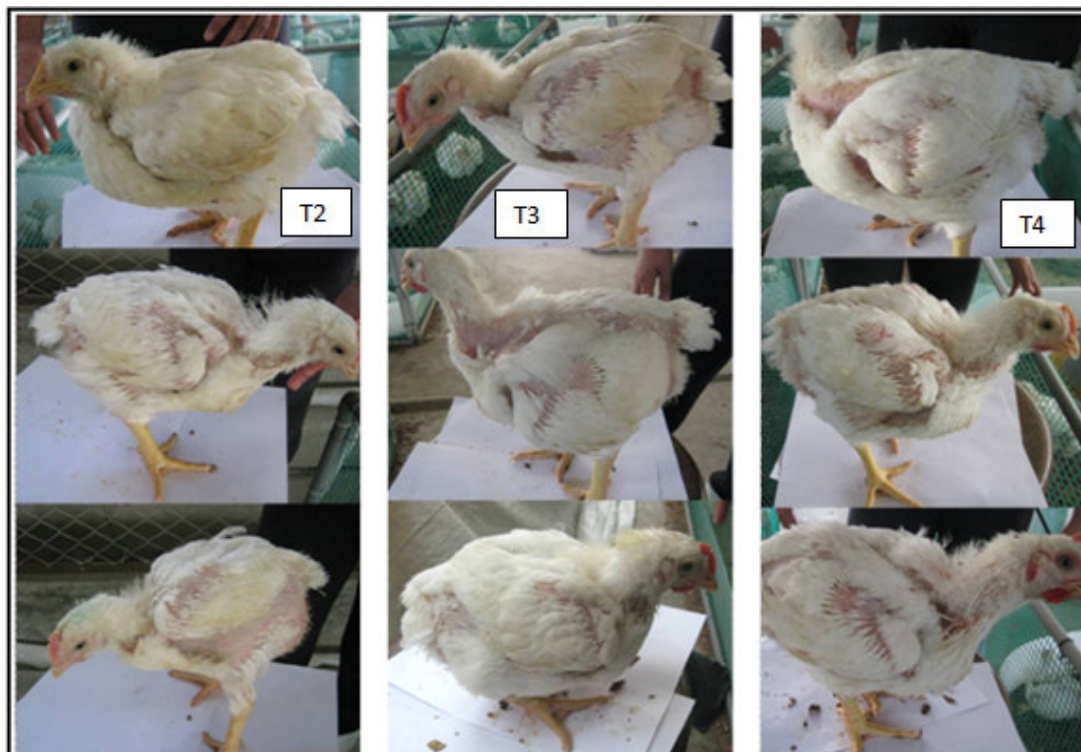
E. Heces con presencia de sangre y coágulos encontrado en T3 (desafiado y tratado con Salinomicina/Nicarbazina 40/40ppm) F. Presencia de heces de coloración naranja con presencia de alimento sin digerir observada en el grupo T3 G. Heces de aspecto mucoide naranja con presencia de sangre observada en el grupo T4 (desafiado y tratado con Salinomicina/Nicarbazina 50/50ppm) H. heces poco consistente asociado a coágulo encontrado en T4.



Evaluación de plumas de la cloaca del grupo T2 (desafiado no tratado) versus el grupo T1 (no desafiado y tratado con Salinomicina/Nicarbazina 50/50ppm) a los 8 días post infección. Nótese signos de diarrea, heces y empastamiento de la cloaca en el ave del control positivo (izquierda) comparado con un ave normal del control negativo (derecho).

APÉNDICE 3

Evaluación del emplume de las aves a los 28 días de edad en los tratamientos desafiados con el inóculo de coccidias

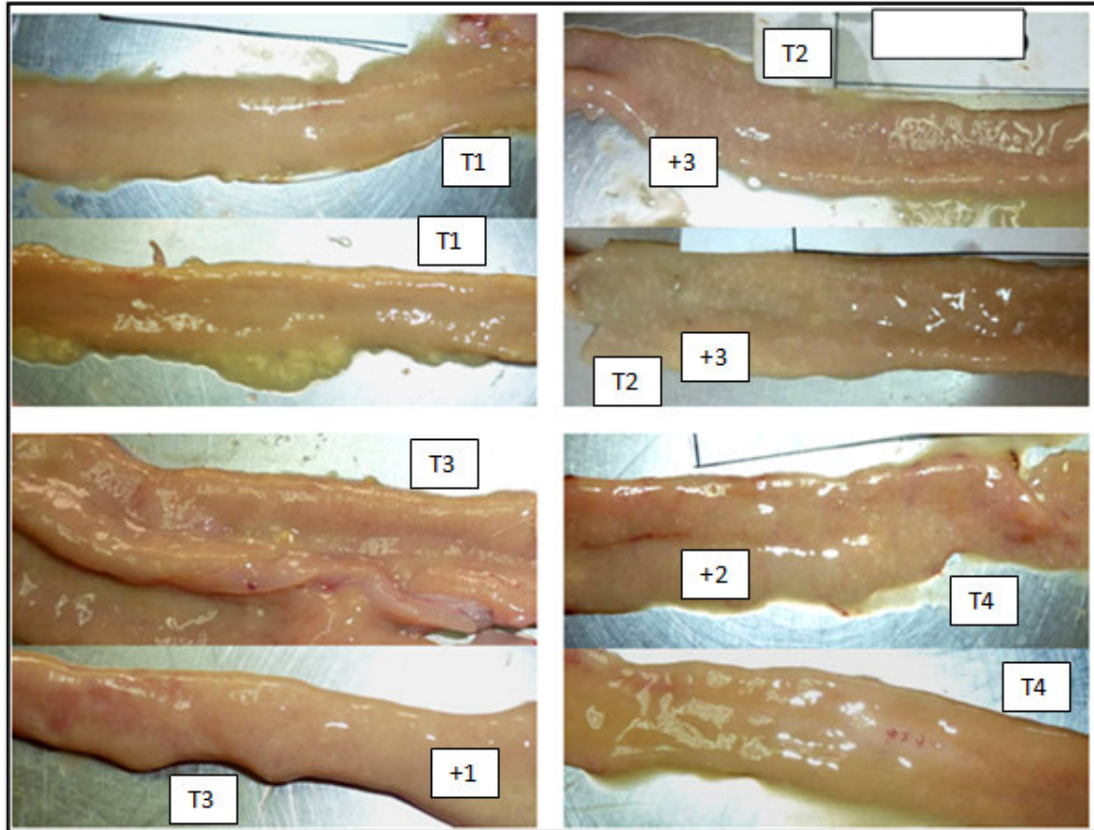


T2: Control positivo desafiado-no tratado, T3: desafiado-tratado con Salinomicina/Nicarbazina 40/40 ppm, T4: desafiado-tratado Salinomicina/Nicarbazina 50/50 ppm.

A lo largo del estudio no se evidenció ningún efecto negativo del uso del producto anticoccidial sobre el emplume de las aves. Como consecuencia del desafío de coccidias algunas aves presentaron erizamiento de plumas.

APÉNDICE 4

Lesiones macroscópicas encontradas a nivel de duodeno a los siete días post infección



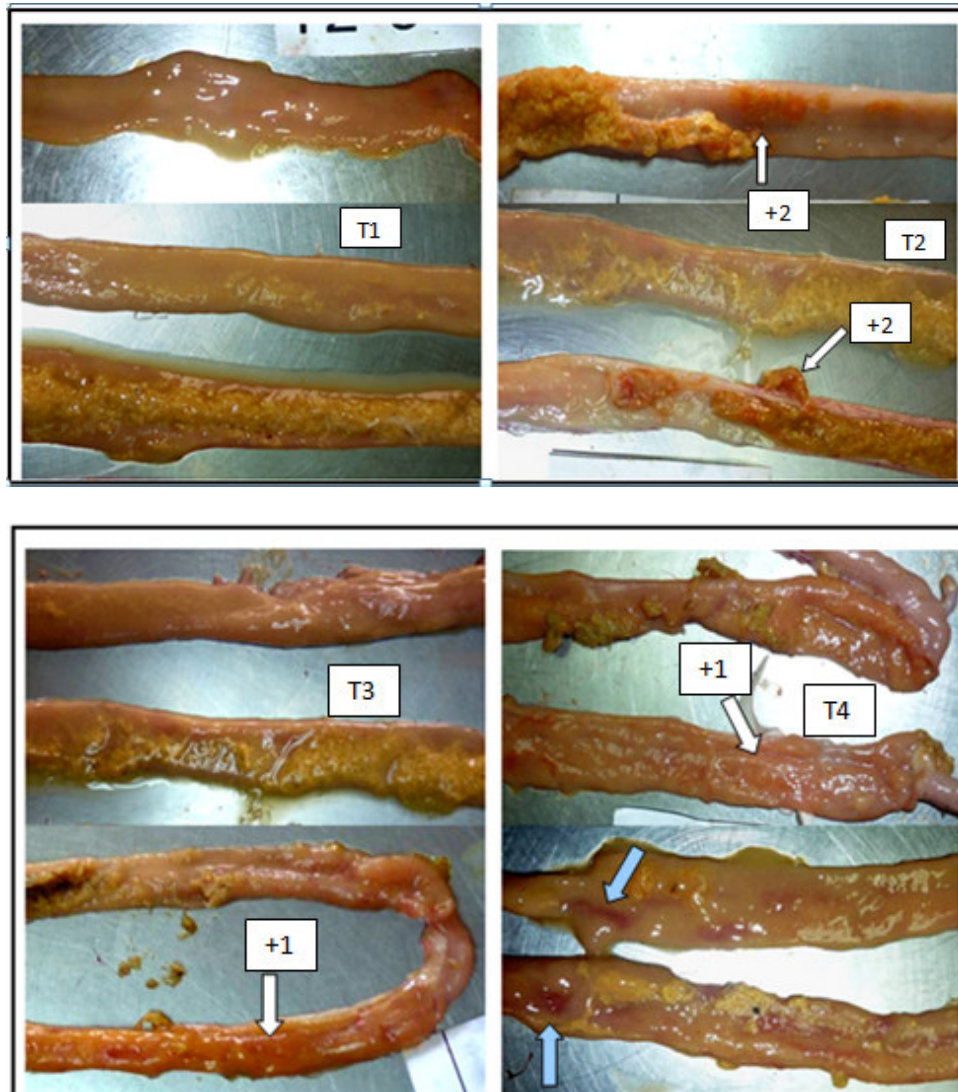
T1: Control negativo tratado con Salinomycin/Nicarbazina 50/50 ppm, T2: Control positivo desafiado-no tratado, T3: desafiado-tratado con Salinomycin/Nicarbazina 40/40 ppm, T4: desafiado-tratado Salinomycin/Nicarbazina 50/50 ppm.

(+3 o +2): Indica el grado de lesión alcanzado según el escore propuesto por Johnson y Reid (1970).

Las lesiones más severas a nivel de duodeno fueron encontradas en las aves de T2, las cuales fueron de grado 3 a 4 para *E. acervulina*. Lesiones más leves fueron observadas en los grupos T3 y T4 desafiados y tratados con Salinomycin/Nicarbazina. Las aves de T1 no presentaron lesiones evidentes por coccidias en esta porción del intestino.

APÉNDICE 5

Lesiones macroscópicas encontradas a nivel de yeyuno a los siete días post infección.

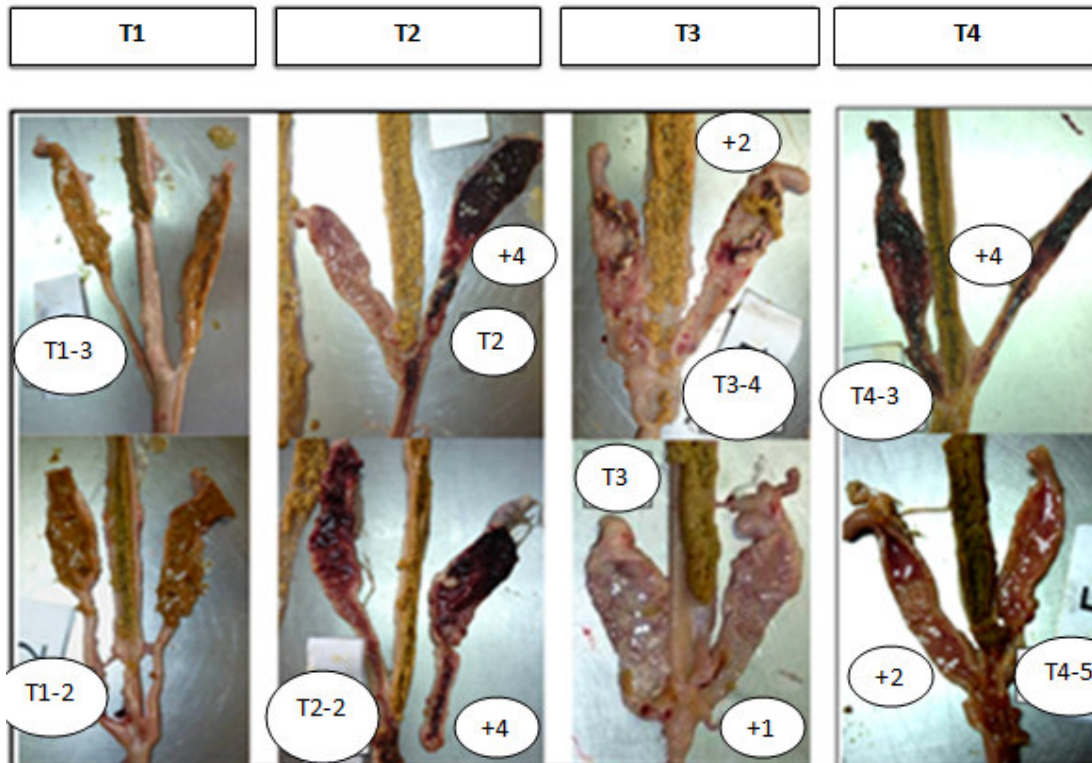


T1: Control negativo tratado con Salinomycin/Nicarbazin 50/50 ppm, T2: Control positivo desafiado-no tratado, T3: desafiado-tratado con Salinomycin/Nicarbazin 40/40 ppm, T4: desafiado-tratado Salinomycin/Nicarbazin 50/50 ppm. (+2 o +1): Indica el grado de lesión alcanzado según el escore propuesto por Johnson y Reid (1970).

Nótese la presencia de contenido mucoso naranja en yeyuno de aves de los tratamientos T2, T3 y T4 (flechas blancas) causados por *E. maxima* (confirmado a la microscopía). En el grupo T4 se aprecia leve congestión de la mucosa (flechas celestes). Las aves de T1 no evidenciaron lesión alguna en esta porción del intestino.

APÉNDICE 6

Lesiones macroscópicas encontradas a nivel de ciegos a los siete días post infección



T1: Control negativo tratado con Salinomicina/Nicarbazina 50/50 ppm, T2: Control positivo desafiado-no tratado, T3: desafiado-tratado con Salinomicina/Nicarbazina 40/40 ppm, T4: desafiado-tratado Salinomicina/Nicarbazina 50/50 ppm.

(+1 a +4): Indica el grado de lesión alcanzado según el score propuesto por Johnson y Reid (1970).

Nótese el contenido pastoso y coloración marrón clara del contenido cecal aparentemente normal en el grupo T1 (control negativo no desafiado tratado con Salinomicina/Nicarbazina 50/50ppm) en comparación a los grupos desafiados T2, T3 y T4; los cuales evidenciaron tiflitis hemorrágica de grado variable.

APÉNCICE 7

Determinación de Salinomicina y Nicarbazina, luego de ser añadido y mezclado en el alimento balanceado de aves

Tratamiento	Primer análisis* (12-02-2014)		Segundo análisis (05-03-2014)		Tercer análisis (10-03-2014)	
	Nicarbazina ¹ (ppm)	Salinomicina ² (ppm)	Nicarbazina (ppm)	Salinomicina (ppm)	Nicarbazina (ppm)	Salinomicina (ppm)
T2 (sin producto)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
T3 (Salinocarb 40/40ppm)	40.41	38.43	40.63	38.83	40.15	38.55
T1 (Salinocarb 50/50ppm)	50.33	49.76	50.14	49.19	50.18	49.41
T4 (Salinocarb 50/50ppm)	50.35	49.18	50.53	49.35	50.04	49.49

* Valores representan el promedio de 3 muestras de alimento del mismo tratamiento tomadas al azar para su análisis en tres fechas de preparación de alimento balanceado durante la ejecución del estudio.

¹ Para la determinación de nicarbazina se empleó el método de análisis cuantitativo por HPLC (referencia).

² Para salinomicina el análisis cuantitativo mediante espectrofotometría UV-VIS (referencia).

APÉNDICE 8

Composición nutricional de las dietas de inicio y crecimiento empleadas en el estudio

INICIO (1 a 21 días de edad)			
INGREDIENTE, %	A	B	C
Maíz amarillo	59.864	59.785	59.764
Torta de soya	31.287	31.303	31.307
Aceite de soya	4.713	4.739	4.746
Fosfato dicálcico	1.866	1.866	1.866
Carbonato de calcio	0.796	0.794	0.794
Sal común	0.376	0.376	0.376
DL-Metionina	0.284	0.284	0.284
Lisina-HCl	0.228	0.227	0.227
Bicarbonato de sodio	0.120	0.120	0.120
Premezcla Vitamínico-mineral*	0.120	0.120	0.120
Cloruro de colina 60	0.100	0.100	0.100
Secuestrante	0.100	0.100	0.100
Treonina-L	0.046	0.046	0.046
Antifúngico	0.050	0.050	0.050
Antioxidante	0.050	0.050	0.050
Anticoccidial mixto	0.000	0.040	0.050
TOTAL	100.000	100.000	100.000

* Administración por Kg de dieta: Vit. A: 12 000 UI; Vit. D3: 2 500 UI; Vit. E: 30 UI; Vit. K3: 3 mg;
 Tiamina: 1.5 mg; Riboflavina: 5.5 mg; Piridoxina: 3 mg; Vit. B12: 15 µg; Ácido fólico: 1 mg; Niacina: 30 mg;
 Ácido pantoténico: 11 mg; Biotina: 150 µg; Zinc: 45 mg; Hierro: 80 mg; Manganeso: 65 mg; Cobre: 8 mg;
 Yodo: 1 mg; Selenio: 150 µg.

CRECIMIENTO (21 a 42 días de edad)			
INGREDIENTE, %	A	B	C
Maíz amarillo	64.354	64.273	64.253
Torta de soya	26.576	26.591	26.595
Aceite de soya	5.498	5.524	5.530
Fosfato dicálcico	1.560	1.560	1.560
Carbonato de calcio	0.714	0.714	0.714
Sal común	0.302	0.302	0.302
DL-Metionina	0.212	0.212	0.212
Lisina-HCl	0.123	0.123	0.123
Bicarbonato de sodio	0.230	0.230	0.230
Premezcla Vitamínico-mineral*	0.120	0.120	0.120
Cloruro de colina 60	0.100	0.100	0.100
Secuestrante	0.100	0.100	0.100
Treonina-L	0.011	0.011	0.011
Antifúngico	0.050	0.050	0.050
Antioxidante	0.050	0.050	0.050
Anticoccidial mixto	0.000	0.040	0.050
TOTAL	100.000	100.000	100.000

* Administración por Kg de dieta: Vit. A: 12 000 UI; Vit. D3: 2 500 UI; Vit. E: 30 UI; Vit. K3: 3 mg;
Tiamina: 1.5 mg; Riboflavina: 5.5 mg; Piridoxina: 3 mg; Vit. B12: 15 µg; Ácido fólico: 1 mg; Niacina: 30 mg;
Ácido pantoténico: 11 mg; Biotina: 150 µg; Zinc: 45 mg; Hierro: 80 mg; Manganeseo: 65 mg; Cobre: 8 mg;
Yodo: 1 mg; Selenio: 150 µg.

NOTA:

- **Fórmula A:** se alimentó a las aves del Tratamiento 2 (Control Positivo); **fórmula B:** se alimentó a las aves del Tratamiento 3; **fórmula C:** se alimentó a las aves de los Tratamientos 1 y 4.
- De 36 a 42 días de edad, todas las aves se alimentaron con la **Fórmula A** de CRECIMIENTO (sin anticoccidiales en evaluación).

APÉNDICE 9

Distribución de repeticiones (unidades experimentales) y condiciones de crianza

